



(19)

Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 922 700 A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(43) Date de publication:

16.06.1999 Bulletin 1999/24

(51) Int. Cl.⁶: C07D 257/02, A61K 49/00

(21) Numéro de dépôt: 98403108.8

(22) Date de dépôt: 09.12.1998

(84) Etats contractants désignés:

AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE

Etats d'extension désignés:

AL LT LV MK RO SI

(30) Priorité: 10.12.1997 FR 9715642

(71) Demandeur: GUERBET
93420 Villepinte (FR)

(72) Inventeurs:

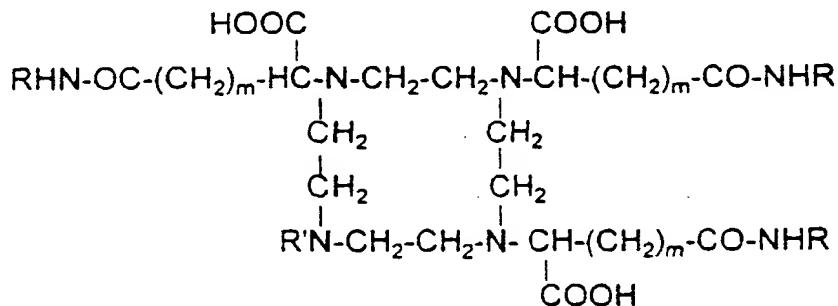
• Meyer, Dominique
94100 Saint-Maur (FR)

- Port, Marc
95170 Deuil-la-Barre (FR)
- Rousseaux, Olivier
60300 Senlis (FR)
- Simonot, Christian
75020 Paris (FR)

(74) Mandataire: Le Guen, Gérard et al
CABINET LAVOIX
2, place d'Estienne d'Orves
75441 Paris Cedex 09 (FR)

(54) Chelates métalliques de dérivés macrocycliques polyaminocarboxyliques et leur application à l'imagerie diagnostique

(57) Chelates des composés de formule



dans laquelle R est un groupe hydrophile comportant 3 ou 4 noyaux phényles successifs et m est 1 ou 2, avec des ions métalliques, pour une utilisation en imagerie diagnostique.

Description

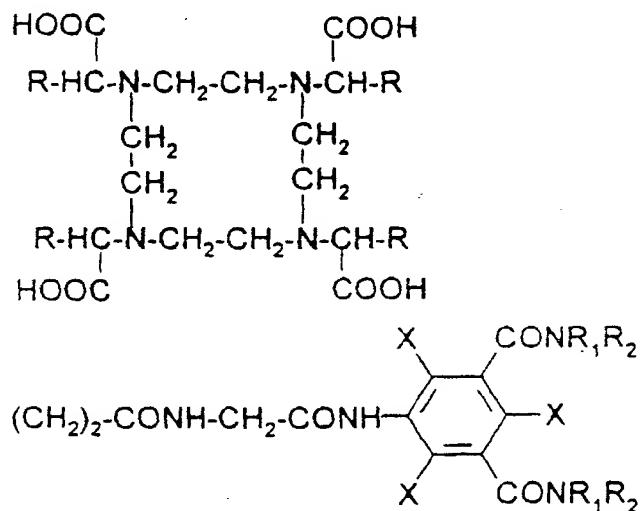
[0001] La présente invention concerne des chelates formés par des acides polyaminocarboxyliques macrocycliques avec des cations métalliques et leur utilisation en imagerie diagnostique, notamment par résonance magnétique (IRM) pour des cations magnétiques.

[0002] Les relaxivités r_1 et r_2 et particulièrement la première donnent la mesure de l'efficacité magnétique d'un tel chelate et permettent d'apprécier son utilité comme produit de contraste. Pour les produits commercialisés actuellement, r_1 ne dépasse pas $6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (à 20 MHz et 37°C), que les chelates soient linéaires (gadopentetate ou DTPA et gadoversetamide) ou macrocycliques (gadoterate ou DOTA et gadoteridol). En outre, ces composés, administrés par voie intraveineuse, diffusent rapidement hors du domaine vasculaire vers le compartiment interstitiel extracellulaire et il n'y a pas encore sur le marché de produit qui reste suffisamment localisé dans les vaisseaux pour permettre une bonne évaluation de la perfusion tissulaire, de la perméabilité capillaire ou du volume sanguin.

[0003] Des dérivés macromoléculaires résultant du greffage d'un chelate classique sur un polymère biocompatible, comme celui obtenu par fixation du gadopentetate sur le polyéthylène glycol ou la polylysine, ou du gadopentetate et du gadoterate sur un polysaccharide, décrits depuis plus de 10 ans et qui ont été testés chez l'animal, ne sont toujours pas développés chez l'homme.

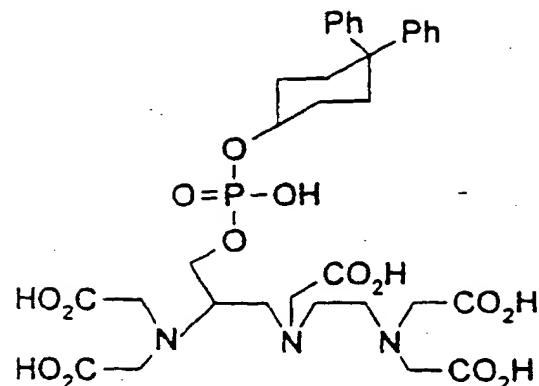
[0004] On a depuis proposé le greffage de ces chelates classiques (DTPA ou DOTA) sur des polymères ramifiés de masse moléculaire unique, dits en cascade ou dendrimères, constitués d'unités répétitives variées, comme par exemple dans EP-A-430863 ou EP-A-607222. Il est mentionné que les relaxivités de ces produits sont élevées et qu'ils présentent une certaine rémanence vasculaire mais ces résultats restent limités puisque, par exemple, les polyamines portant 24 ou 48 molécules de gadopentetate décrites dans EP-A-430863 n'ont, malgré leur taille, qu'une relaxivité r_1 de l'ordre de $13 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, pour $4,8 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ pour le gadopentetate seul; en outre, il paraît difficile d'isoler lors de la synthèse un composé unique, à savoir d'obtenir la substitution de tous les groupes terminaux d'une telle polyamine, en supposant qu'on ait pu l'obtenir de masse moléculaire uniforme, ce qui éviterait la dispersité des propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques des composants de la dose administrée, inconvenients connus des dérivés de polymères classiques, qui a limité leur développement.

[0005] Dans les travaux les plus récents visant à l'obtention de molécules à forte relaxivité, de masse moléculaire unique et ne comportant qu'un seul groupement chelateur, on peut citer EP-A-661279 et WO 97/01359 qui soulignent l'intérêt de l'introduction, dans les structures moléculaires connues, d'au moins 3 bras latéraux hydrophiles de masse supérieure à 200 sur les substituants latéraux des atomes d'azote donneurs qui portent les autres groupes de coordination, qu'ils soient des groupes acides ou dérivés; notamment, il est indiqué que les complexes de gadolinium des composés dérivés du gadoterate de formule



ont une relaxivité $r_1 > 20 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ à 20 MHz et 37°C .

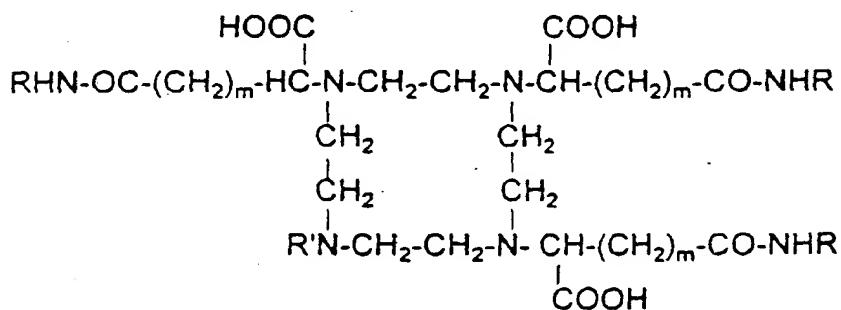
[0006] Comme composés à forte relaxivité et présentant une certaine rémanence vasculaire, il faut aussi citer ceux décrits dans WO 96/23526, de structure sensiblement différente des précédents, dont l'un des représentants, MS325, complexe de gadolinium du composé de formule



se fixe réversiblement sur l'albumine du plasma de telle sorte que sa relaxivité r_1 dans ce milieu est pratiquement 10 fois celle du gadopentetate dont il dérive, pour une demi-vie multipliée par 4 et un volume de distribution divisé par 2,5

20 [0007] Contrairement au MS325 et ses homologues, les complexes métalliques paramagnétiques de la présente invention ont des relaxivités élevées, même dans l'eau, puisque r_1 y est supérieure à $30 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ (20 MHz, 37° C); en outre, alors qu'ils ne se fixent pratiquement pas sur l'albumine plasmatique, ils présentent une nette localisation vasculaire et sont principalement éliminés par les reins de telle sorte qu'ils peuvent être avantageusement utilisés en IRM comme produits de contraste, révélateurs du système circulatoire.

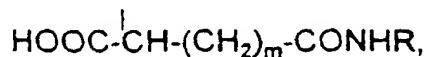
25 [0008] Selon un premier aspect, l'invention concerne les chelates d'ions métalliques paramagnétiques, ou radioactifs, des macrocycles polyaminocarboxyliques de formule



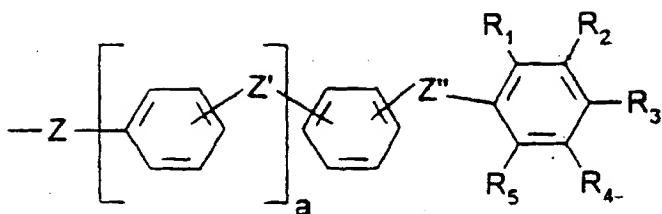
dans laquelle

m est 1 ou 2,

45 R' est H, un groupe ($\text{C}_1\text{-C}_4$) alkyl, éventuellement hydroxylé, un groupe $\text{CH}_2\text{-COOH}$, $\text{CH}_2\text{-CONZ}_1\text{Z}_2$, Z_1 et Z_2 étant indépendamment l'un de l'autre, H, ou un groupe ($\text{C}_1\text{-C}_4$) alkyl, éventuellement hydroxylé, ou R' est un groupe



R est un groupe



5

10

dans lequel a est 1 ou 2

Z est une liaison, CH₂, CH₂-CO-NH ou (CH₂)₂-NHCO

Z' est une liaison, O, S, NQ, CH₂, CO, CO-NQ, NQ-CO, NQ-CO-NQ, CO-NQ-CH₂-CONQ

15

Z'' est CO-NQ, NQ-CO ou CO-NQ-CH₂-CO-NQ, NQ-CO-CH₂-NQ-CO avec Q est H ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé

20

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, indépendamment l'un de l'autre, sont choisis parmi H, Br, Cl, I, CO-NQ₁Q₂ ou N(Q₁)-CO-Q₂ et Q₁ et Q₂, identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl éventuellement hydroxylés et éventuellement interrompus par l'atome d'oxygène, de telle sorte que Q₁ et Q₂ comportent à eux deux de 4 à 10 groupes OH,

étant entendu qu'au moins 1, et au plus 2, groupes R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ sont des groupes amides.

25

[0009] Les cations métalliques complexés dans les chelates de l'invention sont choisis parmi les cations paramagnétiques, généralement utilisés en IRM, spécialement les cations trivalents dont Fe³⁺, Cr³⁺, Eu³⁺, Gd³⁺, Tb³⁺, et particulièrement Gd³⁺, ou pour une utilisation en scintigraphie parmi les cations des radioéléments tels que ^{99m}Tc ou ¹¹¹In.

30

[0010] Les bases minérales qui peuvent donner un sel physiologiquement acceptable avec l'éventuelle fonction acide libre d'un complexe métallique du composé de formule I, sont préférentiellement choisies parmi les hydroxydes et les carbonates des métaux alcalins (K⁺, Na⁺) ou alcalino terreux (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺), tandis que les bases organiques sont choisies parmi les amines telles qu'aminoéthanol, thiométhamine ou N-méthylglucamine, ou parmi les amino-acides tels que la lysine, la glycine ou l'arginine.

35

[0011] On préfère les composés dans lesquels m est 2 et a est 1, R' n'est pas H ou alkyl, Z est une liaison, CH₂ ou CH₂CONH, Z' est CONH, NHCO, CONHCH₂CONH ou NHCONH,

40

Z'' est CONH ou CONHCH₂CONH avec R₃ = CONQ₁Q₂ et R₁, R₂, R₄, R₅ sont indépendamment H, Br, Cl ou I, ou R₂ = R₄ = CONQ₁Q₂, auquel cas R₁, R₃, R₅ sont indépendamment H, Br, Cl ou I,

ou Z'' est NHCO avec R₃ = N(Q₁)COQ₂ et R₁, R₂, R₄, R₅ sont indépendamment H, Br, Cl ou I, ou R₂ = R₄ = N(Q₁)COQ₂, auquel cas R₁, R₃, R₅ sont indépendamment H, Br, Cl ou I.

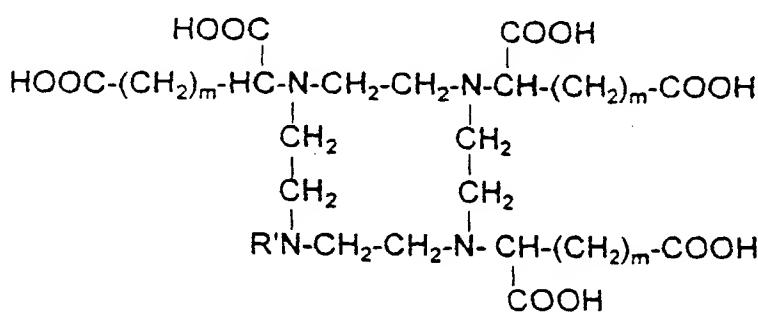
45

[0012] Parmi ceux-ci on préfère les composés dans lesquels Z' est CONH, CONHCH₂CONH ou NHCONH, et mieux, ceux pour lesquels Z' est CONH, liaison plus courte, R₁, R₃, R₅ sont tous les trois Br ou I et R₂ = R₄ = CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ sont des groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH ou si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène, de 4 à 8 groupes OH.

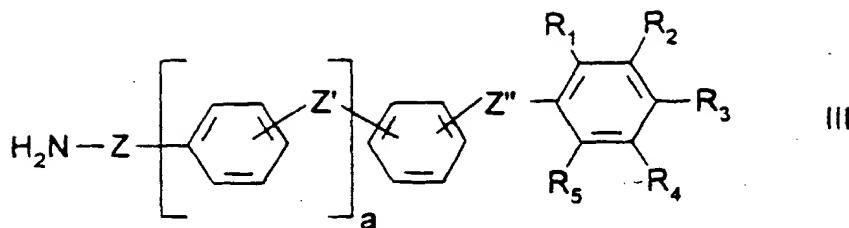
50

[0013] Selon un second aspect, l'invention concerne un procédé de préparation des chelates métalliques des composés de formule I qui consiste à faire réagir sur un chelate II, du cation métallique M³⁺ et du composé de formule

55



une amine de formule



dans laquelle les lettres ont la même signification que dans la formule I en présence d'un agent de couplage, notamment ceux utilisés en synthèse peptidique, adapté au milieu réactionnel, aqueux ou organique, dans lequel les composés de formule II et III sont en solution; au moins partiellement. Dans ces conditions, les groupes acidés carboxyliques bloqués situés sur les carbones en alpha des atomes d'azote du composé II ne réagissent pas.

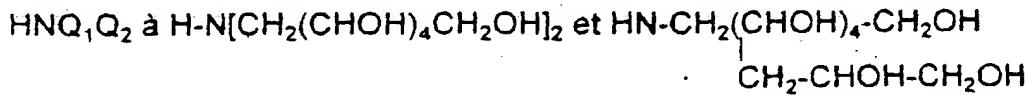
[0014] Selon un autre aspect, l'invention concerne les produits de contraste pour imagerie chez l'homme ou l'animal par scintigraphie lorsque le chelate est radiomarqué ou par résonance magnétique lorsque le chelate comporte un ion paramagnétique, éventuellement sous forme de sel d'un cation minéral ou organique, dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable, associé à des excipients compatibles.

[0015] Selon un dernier aspect, l'invention concerne les méthodes d'imagerie du corps humain ou animal qui consistent à administrer à un sujet une dose unitaire efficace d'une composition de l'invention et à soumettre le tissu ou la zone à étudier à un champ magnétique convenable pour observer la résonance magnétique du proton, ou à une scintigraphie lorsque le chelate contient un radioélément.

[0016] Les chelates des composés de formule I qui comportent 4 substituants identiques sur les atomes d'azote du macrocycle central, le 1,4,7,10-tétraazacyclododécane, ou cyclen, sont préparés avec un nombre d'étapes inférieur à celui des cas dans lesquels R' représente H, CH_2COOH , $\text{CH}_2\text{CONZ}_1\text{Z}_2$, ou un groupe alkyl ou hydroxyalkyl en C₁-C₄, tel que CH₃, CH₂CH₂OH ou CH₂-CHOH-CH₂OH, puisqu'on doit bloquer temporairement sélectivement l'un des 4 atomes d'azote du cyclen par un groupe habile ou effectuer préalablement une monosubstitution du macrocycle par le groupe R'.

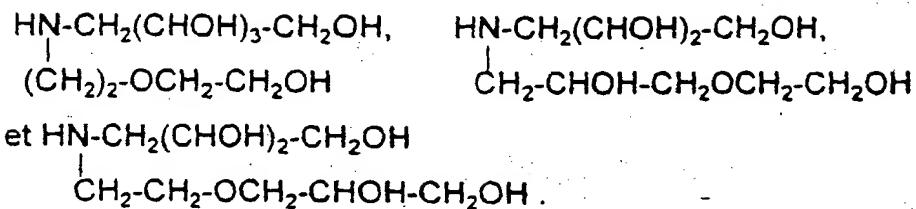
[0017] Les groupes R des composés de l'invention comportent 3 ou 4 noyaux phényles, dont celui le plus éloigné du macrocycle est substitué par un ou des groupes hydrophiles, qui influent sur la solubilité aqueuse et la biocompatibilité du chelate. Parmi ces groupes hydrophiles, on préfère les groupes amides tertiaires, dont les substituants sont des groupes (C_2 - C_6) alkyl hydroxylés éventuellement interrompus par un atome d'oxygène et particulièrement ceux dérivés des aminoalcools linéaires HNQ_1Q_2 , dans lesquels Q_1 et Q_2 , indépendamment l'un de l'autre, sont $CH_2(CHOH)_n(CH_2OCH_2)_r(CHOH)_pCH_2OH$, et,

- si dans Q_1 et Q_2 $r = 0$, alors $p = 0$ et n peut être 0 à 4 et Q_1 et Q_2 comportent ensemble de 5 à 10 groupes OH, ce qui correspond notamment pour



- si $r = 1$ dans Q_1 et/ou Q_2 , n et p sont, indépendamment l'un de l'autre, 0 ou 1 et Q_1 et Q_2 comportent ensemble de 4 à 8 groupes OH,

- ⁵⁰ ce qui correspond notamment pour HNQ_1Q_2 à

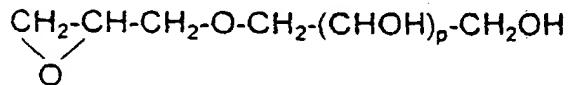


[0018] Ces aminoalcools précurseurs sont commerciaux ou peuvent être préparés

- soit à partir de l'aminoalcool primaire convenable, par exemple par action d'un sucre et réduction comme décrit dans EP-A-675105 lorsque $n = 4$ et $p = r = 0$, ou pour ceux dans lesquels $n = 3$ et $p = r = 0$, comme décrit dans EP-A-558395,
- soit par action d'un sucre sur la benzylamine suivie de l'introduction du second substituant hydroxylé par action d'un halogénure ou sulfonate convenable puis de l'élimination du benzyle par hydrogénéation catalytique.

[0019] Lorsque Q_1 et/ou Q_2 comportent un atome d'oxygène dans la chaîne, les aminoalcools sont, lorsque $n = p = 0$, préparés à partir du 2-aminoéthoxyéthanol sur lequel on peut faire réagir un époxyde ou un halogénure d'alkyl hydroxylé convenable ou encore un aldéhyde aliphatique hydroxylé tel qu'un monosaccharide pour former une imine, ensuite réduite par voie catalytique ou chimique.

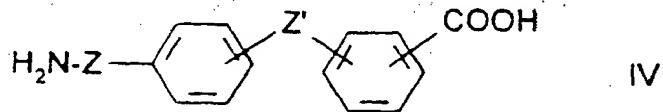
[0020] Lorsque n est 1 on peut préparer les aminoalcools par action de l'époxyde



sur l'aminoalcool primaire convenable, les dits époxydes étant obtenus par oxydation des dérivés éthyléniques correspondants, par un peracide ou un acide peroxyimidique, comme décrit dans J. Org. Chem. 26 659-663 (1961) et 48 888-890 (1983).

[0021] La présence d'atomes d'halogène à côté des groupes amides sur le noyau phényle est avantageuse et on préfère les groupes R dans lesquels $R_1=R_3=R_5=\text{Br}$ ou I et $R_2=R_4=\text{CO-NQ}_1\text{Q}_2$, notamment pour leur stabilité.

[0022] On peut former le pont Z'' entre les 2 noyaux phényles avant ou après les ponts Z' . Par exemple, le composé



peut être préparé, quand Z est une liaison, à partir des dérivés diphenyles V ou leurs esters



dans lesquels Z' a la même signification que dans la formule I.

[0023] Le composé V dans lequel Z' est O est décrit dans Makromolekulare Chemie 130 103-144 (1969); celui dans lequel Z' est NH est décrit dans Indian J. Chem. 13 35-37 (1975), celui dans lequel Z' est CH_2 ou CO, dans J. Pharm. Sci. 55(3) 295-302 (1966), celui dans lequel Z' est une liaison, dans Synth. Comm. 24(22) 3307-3313 (1994), et celui dans lequel Z' est S est décrit dans II Farmaco, 44(7-8) 683-684 (1989).

[0024] D'autres composés V peuvent être préparés par des procédés d'analogie; par exemple, lorsque Z' est

HNCONH, par action de $O_2NC_6H_4NCO$ sur $H_2NC_6H_4COOH$ en milieu anhydre, ou lorsque Z' est $NHCO$ ou $CONH$, par réaction du chlorure d'acide aromatique sur l'aniline convenable en solution dans un solvant aprotique tel que CH_2Cl_2 , $C_6H_5CH_3$, $CH_3CON(CH_3)_2$, ou de l'acide aromatique sur l'aniline en présence d'un chlorure d'acide sulfonique, de triéthylamine et de diméthylaminopyridine comme décrit dans Synth. Communications 25(18) 2877-2881 (1995).

5 [0025] La réduction du groupe NO_2 en NH_2 peut être effectuée, de manière connue, par l'hydrogène en présence de catalyseur, ou par voie chimique.

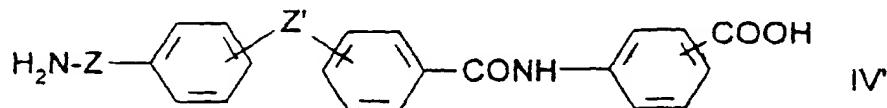
[0026] Lorsque Z dans la formule IV est CH_2CONH , on fait réagir la glycine activée dans laquelle le groupe NH_2 est protégé, sur le composé IV dans lequel Z est une liaison ou sur une aniline portant un groupe précurseur de Z' , éventuellement protégé. La glycine est protégée par exemple sous forme de carbamate, en particulier t-butylcarbamate (Synthesis, 48, 1986) et benzylcarbamate (Chem., Ber., 65, 1192 (1932)), sous forme de phtalimide (Tetrahedron Letters 25, 20, 2093-2096 (1984)), avec un benzyl (Bull. Soc. Chim. Fr., 1012-1015, (1954)), un N-allyl (Tetrahedron Letters 22, 16, 1483-1486 (1981)). (Voir aussi Protective groups in organic synthesis 315-349, T.W. Greene (John Wiley & Sons Inc.).)

[0027] L'élimination du groupe protecteur du NH_2 fixé sur Z n'est, en général, effectuée qu'au stade du composé III. De façon classique, un groupe phtalimido est éliminé par action de l'hydrazine, alors qu'un groupe benzyloxycarbonyle ou benzyle l'est par hydrogénéation catalytique.

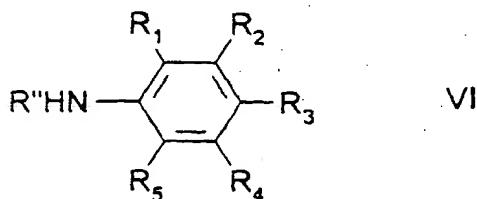
[0028] Lorsque $Z=CH_2$ dans le composé IV et $Z'=CONH$ ou $CONHCH_2CONH$, on peut faire réagir l'acide 4-amino-méthylbenzoïque dans lequel le groupe NH_2 est protégé sous forme de carbamate ou d'imide comme décrit dans J. Org. Chem. 43, 2320-2325 (1978) ou dans Rec. Trav. Chim. Pays-Bas, 79, 688 (1960) sur l'acide benzoïque protégé convenablement substitué.

[0029] Lorsque Z est $(CH_2)_2NHCO$, on peut préparer le composé III par action d'un excès d'éthylénediamine sur un ester benzoïque convenable, soit portant l'enchaînement $(Z'-phényle)_a-Z''-phényle$ substitué, soit portant seulement un groupe précurseur de Z' éventuellement protégé.

[0030] Par ailleurs, lorsque a est égal à 2, on peut faire réagir le composé IV dont le groupe amine est éventuellement protégé sur un acide aminobenzoïque dont la fonction acide est éventuellement protégée, pour obtenir les composés IV' dans lesquels le second Z' est $CONH$ de formule



35 [0031] On fait ensuite réagir sur le noyau phényle terminal convenablement substitué de formule



45 dans lequel R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 sont H, halogène, $CO-NQ_1Q_2$ comme dans la formule I ou sont éventuellement protégés et R'' représente $CO-CH_2-NH_2$ ou H, en solution organique ou aqueuse, les composés IV ou IV'

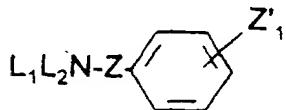
50 soit sous forme de chlorure d'acide soit en présence d'un agent de couplage, tel que ceux utilisés en synthèse peptidique et par exemple un chloroformate, un sulfochlorure, ou un carbodiimide aliphatique, éventuellement porteur d'un groupe amine ou ammonium quaternaire solubilisant.

[0032] L'amide de formule VI dans lequel $R'' = H$ est préparé par des méthodes connues de l'homme du métier à partir de l'acide aromatique convenable, éventuellement halogéné, dans lequel chaque groupe carboxylique présent est activé sous forme de chlorure d'acide ou d'anhydride mixte, ou à partir de l'acide aromatique nitré que l'on amidifie avant de réduire le groupe NO_2 .

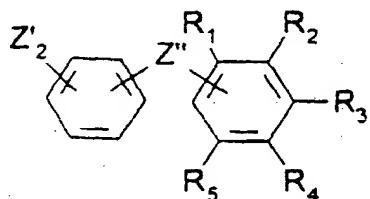
55 [0033] Les composés VI dans lesquels $R_1=R_3=R_5=Br$ ou I, et R_2 et $R_4=CO-NQ_1Q_2$ avec $Q_1=CH_2(CHOH)_4CH_2OH$ et $Q_2=CH_2CH_2OH$ ou $CH_2(CHOH)_{1.3}CH_2OH$ et $R''=CO-CH_2-NH_2$ sont décrits dans WO 97/01359. Les autres dérivés, halogénés ou non, et notamment ceux dans lesquels les chaînes Q_1 et Q_2 sont interrompues par un atome d'oxygène peuvent être préparés de manière analogue à partir des aminoalcools convenables.

[0034] Lorsque Z est une liaison on préfère faire réagir le composé nitré tel que V sur l'aniline VI avant d'effectuer la réduction.

[0035] On peut aussi éventuellement, faire réagir les composés IV ou IV' sur un composé précurseur de VI, comportant le groupe COOH, éventuellement protégé sous forme d'ester, à la place du groupe CO-NQ₁Q₂, pour ne faire qu'ensuite le mono ou diamide, ou encore faire réagir un composé

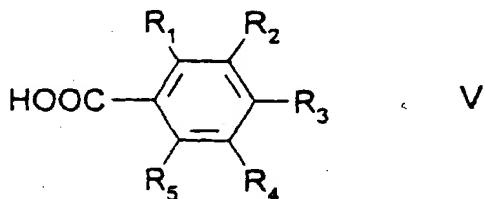


dans lequel NL₁L₂ est un groupe amino protégé, avec

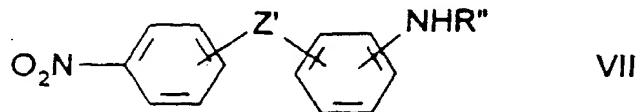


tels que Z'₁ et Z'₂ réagissent pour donner Z'.

[0036] Pour préparer un composé III dans lequel R₃ ou R₂ et R₄ représentent N(Q₁)CO-Q₂ et Z" = NH-CO ou NH-CO-CH₂-NH-CO, on peut faire réagir l'acide benzoïque de formule



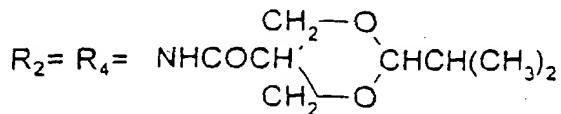
dans lequel les hydroxyles du groupe N(Q₁)COQ₂ sont éventuellement protégés sur une amine



dans laquelle R" est H ou COCH₂-NH₂, avant de réduire le groupe nitro pour obtenir un composé III dans lequel Z est une liaison.

[0037] Parmi les composés de formule V, on peut citer ceux préparés à partir de CH₂(OCOCH₃)CH(OCOCH₃)₄COCl, décrit dans Org. Synth. 41, 79-82 (1961), et des acides aminobenzoïques convenables, ou celui dans lequel R₁=R₃=R₅=I

et



décrét dans EP 357467.

[0038] Dans les groupes amides Z' et Z'', Q peut être introduit de façon classique par action de l'halogénure correspondant en présence d'une base sur le composé dans lequel Q = H, de préférence aux stades des intermédiaires.

[0039] La réaction des composés de formule III sur les sels des chelates de formule II a lieu, de préférence en milieu aqueux, éventuellement en présence d'un tiers solvant aprotique polaire tel que dioxane ou tétrahydrofurane, en présence d'un carbodiimide soluble, tel que ceux porteurs du groupe amine décrits dans J. Org. Chem. 21, 439-441 (1956) et 26, 2525-2528, (1961) ou US 3,135,748, ou de groupe ammonium quaternaire dans Org. Synth. V, 555-558, qui concerne un dérivé du 1-éthyl-3-(3-diméthylamino)propyl carbodiimide (EDCI) ou son analogue, le 1-cyclohexyl 3-(2-morpholinoéthyl)carbodiimide métho p-tolyl sulfonate. Elle peut aussi être effectuée en présence de N-hydroxysulfosuccinimide comme décrit dans Bioconjugate Chem. 5, 565-576 (1994) ou de 2-succinimido 1,1,3,3-tétraméthyluronium tétrafluoroborate et analogues décrits dans Tetrahedron Letters 30, 1927-1930 (1989).

[0040] Un autre procédé consiste à former un ester activé intermédiaire en faisant réagir par exemple le N-hydroxysulfosuccinimide (NHS) ou l'hydroxybenzotriazole (HOBT) en présence de carbodiimide tel que l'EDCI sur le chelate II qui peut être solubilisé par salification avec un cation minéral, par exemple un ammonium ou sodium.

[0041] En présence de 2-éthoxy 1-éthoxycarbonyl 1,2-dihydroquinoléine (EEDQ), on peut effectuer la réaction en milieu hydroalcoolique.

[0042] Le composé de formule II' dans laquelle m est 1, peut être préparé à partir du cyclen sur lequel on fait réagir un diester de l'acide acétylène dicarboxylique pour obtenir une énamine que l'on réduit par une méthode classique, catalytique ou chimique, suivie de l'hydrolyse des fonctions esters. Dans le cas d'ester benzylique, on préfère dans une première étape, effectuer la réduction chimique des énamines, par exemple par action d'un cyanoborohydrure, suivie de la débenzylation par l'hydrogène en présence de catalyseur.

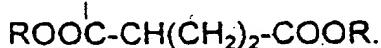
[0043] Le chelate II dans lequel m = 2 et les 4 substituants des atomes d'azote sont identiques et M³⁺ est Gd³⁺ est un composé connu, décrit notamment dans EP-A-661279.

[0044] Le chelate II dans lequel m = 1 est préparé par les mêmes procédés.

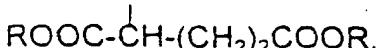
[0045] Les composés II dans lesquels M³⁺ représente un autre cation métallique seront préparés de façon analogue par action du sel métallique, particulièrement le chlorure, ou de l'oxyde métallique sur une solution aqueuse d'un sel du ligand, comme décrit dans US 5,554,748 et les références qui y sont citées, ou dans Helv. Chim. Acta 69, 2067-2074 (1986), ou par échange de cation lorsque la stabilité relative des chelates le permet, notamment avec une résine échangeuse d'ions.

[0046] Pour les chelates avec un radioélément, on peut effectuer un échange radioisotopique par chauffage d'un chelate avec un sel minéral du métal radioactif dans l'eau ultrapure et élimination des cations non complexés par passage sur une résine complexante. On peut aussi libérer le cation métallique du chelate par un autre agent complexant en excès, de préférence donnant un chelate de Gd insoluble, tel que l'acide oxalique, pour obtenir le composé de formule II pur, avant de complexer un autre cation métallique.

[0047] Les composés II' dans lesquels m = 2 et R' est H, alkyl éventuellement hydroxylé, CH₂COOH et CH₂CONZ₂ peuvent être préparés à partir du cyclen monosubstitué par R' ou par un groupe protecteur éliminable, auquel cas l'introduction de R' a lieu après trialkylation avec



Parmi les procédés de monosubstitution, on peut citer la réaction de monoalkylation favorisée par le choix du solvant, décrite dans J. Org. Chem. 58, 3869-3876 (1993), celle avec complexation de 3 des atomes d'azote par des dérivés du bore ou du phosphore, décrite respectivement dans Tetrahedron Letters 32(5) 639-641 (1991) et Angew. Chem. Int. Ed. 30(5) 560-561 (1991), ou celle avec formation d'un intermédiaire orthoamide décrite dans US 5,410,043. Lorsque R' est différent de H, il est préférable d'introduire d'abord R' au lieu d'effectuer directement la trialkylation du cyclen par un dérivé réactif de



les dérivés dialkylés et tetraalkylés formés simultanément ne pouvant être éliminés par des opérations simples.

[0048] Les méthodes de purification des différents intermédiaires de synthèse et du produit final sont classiques mais doivent évidemment être adaptées à la nature chimique du produit, à sa masse moléculaire, à ses solubilités et à la viscosité de ses solutions. On peut mettre en œuvre les méthodes de séparation chimiques (dissolution sélective, cristallisation) ou physiques par filtration sur membrane ou par un traitement par adsorbant, en suspension ou en colonne.

[0049] Notamment pour les composés III qui sont solubles en milieu aqueux, on pourra purifier par passage sur des

résines échangeuses d'ions anionique et cationique ou par ultrafiltration, par diafiltration ou par osmose inverse sur une membrane convenablement choisie pour éliminer dans l'éluat les molécules de faible masse, les solvants et les sels.

[0050] Pour les composés II, il est préférable de ne pas effectuer un traitement pouvant modifier les proportions relatives des isomères et on peut purifier les esters intermédiaires dissous dans un solvant organique non miscible par agitation avec une phase aqueuse acide puis, après décantation, par mise en contact avec un adsorbant, tel que le Silica Gel, avant d'effectuer leur hydrolyse en milieu basique ou acide pour obtenir les acides II à complexer.

[0051] Les chelates de formule I sont purifiés en général sous forme de sel alcalin soluble en milieu aqueux par l'une des méthodes précédemment citées, et notamment par traitement de leur solution aqueuse avec du noir de carbone ou de la silice silanisée.

[0052] Ces chelates de l'invention sont caractérisés par la présence sur le noyau central chelateur de bras latéraux comportant 3 ou 4 noyaux phényles successifs, réunis entre eux par des ponts de faible longueur, le dernier noyau phényle portant au moins un groupe hydrophile; malgré leur masse moléculaire élevée, et la présence de plusieurs noyaux phényles hydrophobes, ces composés sont solubles dans l'eau et biocompatibles et peuvent être administrés par voie intraveineuse chez l'homme.

[0053] En outre, et c'est une propriété très importante, ils franchissent peu les parois vasculaires contrairement aux composés commercialisés, ce qui permet d'obtenir lors de l'imagerie par résonance magnétique, un fort contraste entre les vaisseaux et les tissus avoisinants; cette propriété, associée à leur forte relaxivité, permet soit d'injecter au patient des doses de gadolinium complexé inférieures, soit de détecter des états pathologiques que l'on ne pouvait jusque là mettre clairement en évidence.

[0054] Les chelates paramagnétiques de l'invention peuvent être formulés pour une administration parentérale ou entérale, associés aux véhicules pharmaceutiques et excipients classiques dans ce domaine.

[0055] Pour une administration intraveineuse ou intraartérielle, les composés de l'invention se présentent en solution aqueuse stérile à la concentration de 0,001 à 0,5 mole/litre associés éventuellement à un agent stabilisant le pH vers 7, comme le tampon TRIS ou CO₂, à un agent isotonisant tel que mannitol, glycérol ou glucose de préférence à NaCl qui peut modifier la solubilité et la dispersion du chelate, ou à un autre complexant tel que l'EDTA.

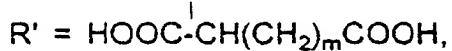
[0056] Pour éliminer les endotoxines qui peuvent contaminer le produit fini, à la suite notamment de purification par chromatographie liquide, on effectue de préférence une ultrafiltration, éventuellement tangentielle à un volume sensiblement constant, sur des membranes dont la nature et le seuil de coupure sont fonction de la masse moléculaire du produit et la pression de la viscosité de la solution. Cette purification peut être réalisée aussi à certaines étapes intermédiaires sur des composés de plus petite taille, par microfiltration, notamment sur membrane chargée, ou par ultrafiltration. On peut aussi envisager des traitements par un adsorbant, spécifique ou non des endotoxines tel que noir de carbone.

[0057] Pour une administration intravaginale les solutions aqueuses comportent de préférence un agent viscosifiant, telle qu'une gomme naturelle, un polysaccharide ou un dérivé de cellulose. Pour une administration rectale, le chelate sera formulé sous forme de suppositoire ou de solution visqueuse. Enfin, pour une administration orale, il pourra être présenté sous forme de gélules, de comprimés ou de sirop, préparés avec les excipients habituels. Des exemples de formulations peuvent être trouvés dans Remington's for Pharmaceutical Science, 18e Edition (1990), Mack. Pub. Cy.

[0058] La dose unitaire et sa concentration sont fonction de la taille du patient, du type d'imagerie effectuée, mais aussi de la solubilité, de la viscosité en solution, de l'efficacité magnétique, de la perméabilité capillaire et de la pharmacocinétique du composé. Ils seront utilisés en imagerie par résonance magnétique en appliquant des techniques rapides ou non, pour étudier la perfusion, en particulier myocardique, cérébrale, rénale ou hépatique, pour des angiographies ou pour visualiser ou caractériser des anomalies de perméabilité, en particulier tumorale, inflammatoire et ischémique ou du cartilage.

[0059] Ces produits pourront aussi être utilisés en médecine nucléaire après introduction d'un atome radioactif, par exemple par échange isotopique des halogènes ou du cation complexé; une scintigraphie des zones à imager sera effectuée après administration des chelates de l'invention.

[0060] Dans ce qui suit, des exemples de composés de l'invention sont décrits ainsi qu'un procédé de préparation des chelates de gadolinium des composés de formule II dans laquelle



R' = H et R' = CH₂COOH, et des composés VI précurseurs des phényles.

[0061] Les produits isolés sont, selon les cas, caractérisés par leurs distances de rétention en chromatographie sur couches minces ou leurs temps de rétention (t_r) en chromatographie liquide haute performance (HPLC) ou en chromatographie d'exclusion stérique (CES). Leurs masses moléculaires ont été déterminées par spectrométrie de masse (electrospray).

A. Chelate de gadolinium de l'acide [1,4,7,10-tétraazacyclododécane]1,4,7,10-tétra(2-glutarique) (sel de sodium):

5 1. Dans une solution de 25 g de 1,4,7,10-tétraazacyclododecane dans 280 ml d'acétonitrile, on introduit 30 g de carbonate de sodium puis 78 g de 2-bromoglutarate d'éthyle, préparé par exemple comme décrit dans Acta Chim. Acad. Sci. Hung 41(3) 331-6 (1964); le milieu est porté à sa température de reflux une journée au cours de laquelle on rajoute par 2 fois 78 g du dérivé bromé avec 30 g de carbonate de sodium. On filtre le précipité après refroidissement et on lave la phase organique avec de l'eau avant de l'extraire par une solution aqueuse diluée d'acide chlorhydrique. On extrait ensuite de la phase aqueuse amenée vers pH 3-4 avec du toluène.

10 Le produit cherché est purifié par chromatographie sur silice en éluant avec du chlorure de méthylène, éventuellement en mélange avec de l'acétone. 2. Hydrolyse des fonctions ester:

On introduit 46 g de l'octaester en solution dans 52 ml d'éthanol dans 350 ml d'eau dans lesquels on a ajouté 50 g de NaOH, en perles.

15 Après deux jours sous agitation à 80°C, on introduit dans la solution refroidie 500 ml de résine échangeuse cationique sous forme d'acide faible pour neutraliser puis après séparation de la phase solide, 500 ml de résine échangeuse anionique sous forme de base forte. La résine est séparée et introduite dans 500 ml de solution aqueuse d'acide acétique 6N; le produit final, passé en solution, est isolé sous forme d'une poudre par évaporation sous vide du solvant.

20 HPLC: colonne 25 cm x 4,6 mm de silica gel Nucleosil® C18 100-5.

Eluant No. 1 : H_2SO_4 aqueux (0,1%) pendant 10 minutes puis avec 0 à 10% (V/V) de CH_3CN en 10 minutes: $d = 1 \text{ ml/min}$; $T = 25^\circ\text{C}$;

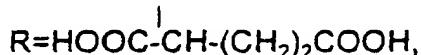
$t_r = 5,4; 8,7; 10,2; 14 \text{ min (isomères)}$ ($\text{CH}_3\text{COOH} - t_r = 4,5 \text{ minutes}$).

25 3. Complexation:

Par l'oxyde de gadolinium: dans 30 ml d'une solution à un pH de 5,5 à 6 de 2 g de l'octaacide précédent, on introduit 0,47 g d'oxyde de gadolinium et on maintient le mélange à 80°C pendant 3 heures, au cours desquelles on ajuste le pH si nécessaire. Après refroidissement, à pH = 6,5 on introduit 2 g de résine Chelex® 100 commercialisée par Sigma sous forme Na^+ ; après quelques heures de contact, on sépare la résine et on verse la solution sur 10 volumes d'éthanol pour précipiter le chelate.

Par le chlorure de gadolinium: on amène à pH 6,5 par addition de NaOH aqueux (1N), le mélange de 6,5 g de l'octaacide et 3,5 g de Gd Cl_3 , 6 H_2O dans 130 ml d'eau, et on le porte à 60°C durant 2 heures au cours desquelles le pH est maintenu à 6,5 par addition au total de 21 ml de NaOH aqueux 1N. Après quelques heures à température ambiante, on concentre jusqu'à 25 ml et on précipite le produit final dans 10 volumes de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$.

30 B. Chelate de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarique) (formule II):



40 R' = H; M = Gd):

45 1. 10-benzyl 1,4,7,10-tétraazacyclododécane:

30,5 g de chlorure de benzyle sont introduits goutte à goutte dans une solution de 50 g de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane dans 500 ml de chloroforme. Après 24 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré; le filtrat est concentré à sec. Le résidu est repris dans 350 ml d'eau et 75 ml de toluène puis après décantation de la phase toluénique, la phase aqueuse est extraite par 2 fois 200 ml de dichlorométhane. La phase organique est séchée sur sulfate de sodium puis concentrée à sec. On obtient 21 g du produit sous forme huileuse.

50 2. 10-benzyl 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarate de méthyle):

Une solution de 56,3 g de 2-bromoglutarate de méthyle dans 50 ml d'acétonitrile est introduite goutte à goutte dans une suspension de 18,7 g du produit précédent avec 24,7 g de carbonate de sodium dans 300 ml d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est porté à sa température de reflux qui est maintenue durant 36 heures; après filtration à température ambiante le solvant est éliminé par évaporation et le résidu dissous dans le minimum d'acétate d'éthyle et purifié par chromatographie sur une colonne de silice en éluant par un mélange d'acétate d'éthyle et d'éther de pétrole (40/60 à 70/30 V/V). On obtient ainsi 20,7 g du produit sous forme

d'huile.

3. Acide 10-benzyl [1,4,7,10-tétraazacyclododécane] 1,4,7-tri-(2-glutarique):

16,7 g de l'huile obtenue ci-dessus en solution dans 40 ml de méthanol sont introduits dans 125 ml d'eau dans lesquels 25 g de NaOH ont été dissous; le mélange est maintenu sous agitation à 70°C pendant 48 heures. On élimine ensuite le méthanol sous pression réduite avant d'introduire 400 ml de résine échangeuse de cations sous forme d'acide faible (Amberlite® - IRC 50 commercialisée par Rohm et Haas) puis, après séparation, d'anions sous forme de base forte (Amberlite® - IRA 458), le produit cherché s'étant fixé sur la résine anionique, il est isolé par élution avec 2 litres d'une solution aqueuse d'acide acétique 3N puis 2 litres de solution 6N.

Après élimination des solvants on obtient 13,5 g de cristaux blancs, mélange d'isomères.

HPLC: colonne No. 1: 25 cm x 4 mm Lichrospher® 100-RP18 - 5 µm (Merck, DE); Eluant No. 1.
 $t_r = 28$, 30 minutes (2 massifs d'isomères 75/25 en surface).

4. Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarique):

13 g du composé précédent en solution dans 210 ml d'eau et 90 ml de méthanol sont hydrogénés durant 3 heures à température ambiante sous une pression de 28×10^4 Pa en présence de palladium à 10% sur charbon humide à 50%. Après élimination du catalyseur et des solvants par évaporation, on obtient 11 g de poudre blanche.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 1.

$t_r = 8$, 9 minutes (2 massifs d'isomères 75/25 en surface).

5. Complexation:

A 60°C, une solution de 1,6 g du composé précédent et 1 g de Gd Cl_3 , 6 H_2O dans 30 ml d'eau est maintenue à pH 5 par addition de NaOH aqueux 3N, durant 4 heures. On concentre jusqu'à obtenir un volume de 10 ml et on précipite le résidu dans 100 ml d'éthanol. On isole par filtration 1,6 g du complexe de gadolinium cherché.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 1; $t_r = 24$, 26 minutes.

C. Chelate de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane 1,4,7-tri-(2-glutarique) 10-acétique:

1. 1 g de l'acide obtenu à l'étape 4 de la préparation B sont mis en solution dans 8 ml d'eau, avec 270 mg d'acide bromoacétique et le mélange est maintenu 3 heures à 70°C et pH 10 contrôlé par addition de NaOH aqueux 1N. On ajoute ensuite à température ambiante 100 ml d'eau et 10 ml de résine Amberlite® IRC 50; après 1 heure de contact la résine est séparée et on introduit dans le milieu 50 ml de résine Amberlite® IRA 458. Après 12 heures, la résine est séparée et introduite dans une colonne. Le produit cherché en est extrait par élution avec 500 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique 1N. On obtient ainsi 0,8 g de cristaux blancs.

HPLC: colonne No. 2: 25 cm x 4 mm Symetry® - RP 18 - 5 µm (Waters); Eluant No. 1; $t_r = 4$ minutes.

2. Complexation:

On introduit dans 13 ml d'eau, 0,45 g de GdCl_3 , 6 H_2O et 0,75 g du composé précédent; le pH est amené à 6 par addition d'une solution aqueuse de NaOH(1N); le milieu réactionnel est alors maintenu à 60°C durant 5 heures au cours desquelles on ajuste plusieurs fois le pH par addition de la solution de NaOH. Après refroidissement, le milieu est introduit dans 130 ml d'éthanol et le précipité est isolé pour donner 0,75 g de chelate.

D. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl) N,N'-[2-(hydroxyéthoxy)éthyl] 2,4,6-triiodo 5-(glycylamino)isophtalamide:

1. 5-[2-(hydroxyéthoxy)éthylamino]pentane 1,2,3,4-tétraol:

On dissout 84 g de 2-aminoéthoxyéthanol et 150 g de D-xylose dans 2,5 l de méthanol; le mélange est hydrogéné à température ambiante sous une pression de 6×10^5 Pa, en présence de 50 g de palladium sur charbon à 10%. Le catalyseur est éliminé par filtration et le solvant distillé. Le résidu, dissous dans le minimum d'eau, est chromatographié sur 100 ml de résine Amberlite® IRN 77 (H^+) en eluant avec une solution aqueuse de NH_4OH puis sur 1 kg de gel de silice Geduran® SI60 pour donner 170 g d'aminoalcool sous forme d'huile brune.

EP 0 922 700 A1

CCM: CH₃OH/NH₄OH à 25% - (7/3 - V/V) - Rf = 0,3.

RMN ¹³C: (DMSO-d6 - 50,3 MHz); δ (ppm): 51,4; 48,9 (2 x CH₂NH); 62,9; 60,5 (2x CH₂OH); 71,9; 71,2; 70,6 (3 x CHOH); 72,3; 69,7 (CH₂OCH₂).

5 On peut préparer de la même manière le dérivé de l'arabinose ou du ribose.

2. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl) N,N'-[2-(hydroxyéthoxy)éthyl] 2,4,6-triiodo 5-(phtalamidoacétamido)isophthalamide:

On dissout 30 g de l'aminoalcool précédemment préparé dans 100 ml de diméthylacétamide, à 45°C, puis on introduit 22 g de dichlorure du dérivé d'acide isophthalique et 12 g de triéthylamine et on laisse le milieu sous agitation à cette température durant 24 heures. On isole le précipité formé à température ambiante et on élimine le solvant par distillation sous vide.

10 Le résidu en solution dans 50 ml d'eau est élué sur 100 ml de résine Amberlite® IMAC HP 1110 (H⁺); après concentration de la solution jusqu'à 10 ml, on la verse dans 1500 ml d'alcool isopropylique et on isole le précipité formé après 24 heures.

15 3. Libération de l'amine:

On introduit à 80°C dans une solution de 40 ml d'eau et 2,7 ml d'hydrate d'hydrazine, 42 g du produit préparé ci-dessus en solution dans 60 ml d'eau. Après 5 heures d'agitation à cette température, on filtre puis acidifie le milieu jusqu'à pH 1 par addition d'acide chlorhydrique concentré. Le précipité formé est séparé et le filtrat concentré. Le résidu en solution dans 30 ml d'eau est chromatographié sur 30 ml de résine Amberlite® IMAC HP 111E (H⁺) puis sur 55 ml de résine Amberlite® IRA 67 (OH⁻). L'éluat concentré est fixé sur 350 ml de résine Amberlite® 252 Na (H⁺), d'où il est élué par une solution aqueuse de NH₄OH (2N). p = 20g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2. H₂O/CF₃COOH (pH 3,4) avec gradient d'acétonitrile 95/5 à 50/50 V/V en 50 minutes;

25 t_r = 10 - 20 minutes (mélange d'isomères).

E. N,N'-[bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-tribromo 5-(glycyl amino)isophthalimide:

30 1. Acide 5-amino 2,4,6-tribromo isophthalique:

On introduit lentement 156 g de brome dans 300 ml d'une solution aqueuse de 50 g d'acide 5-aminoisophthalique et 55 ml d'acide chlorhydrique à 37%. Après 1 nuit d'agitation on neutralise l'excès de brome par addition d'une solution aqueuse de bisulfite de sodium avant d'isoler le précipité. Rendement: 90%.

2. Acide 5-(phtalimidoacétamido) 2,4,6-tribromo isophthalique:

On introduit lentement 27 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 69 g de N-phtaloylglycine, dans 200 ml de diméthylacétamide à 10°C, puis après 2 heures d'agitation on introduit vers 15-20°C, 100 g de l'acide obtenu précédemment. Après 1 nuit à température ambiante, le mélange est versé dans 800 ml d'eau chaude. On isole ainsi 140 g de produit final.

35 3. Chlorure du diacide précédent:

On introduit lentement à 18°C dans une solution de 100 g du diacide dans 300 ml de dioxane et 50 ml de diméthylformamide, 70 ml de chlorure de thionyle. Le précipité jaune formé après 3 journées d'agitation à température ambiante est filtré et lavé avec de l'oxyde de méthyle et de t-butyle. On obtient ainsi 70 g de solide beige.

40 4. N,N'-[bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-tribromo 5-(phtalimidoacétamido)isophthalimide:

On dissout 150 g de disorbitylamine dans 600 ml de N-méthylpyrrolidone à 80°C et on introduit dans le milieu à 60°C, 16 g de carbonate de sodium sec, puis 96 g du chlorure d'acide précédent. Après 1 heure d'agitation à cette température et 16 heures à température ambiante, on élimine le précipité et on verse la solution dans 1,6 l d'isopropanol. Le précipité isolé pèse 200 g.

45 5. Hydrazinolyse:

200 g du produit précédent et 17 ml d'hydrate d'hydrazine sont introduits dans 400 ml d'eau à 70°C. Après 3 heures d'agitation on acidifie jusqu'à pH 4 par addition d'acide chlorhydrique 6N à température ambiante. On élimine alors le précipité formé et on neutralise le filtrat par addition d'une solution aqueuse de NaOH 1N. L'hydrazine en excès est éliminée par osmose inverse. La solution résiduelle est traitée par 10 ml de résine cationique forte puis 65 ml de résine anionique faible.

50 55 Le produit final est alors extrait de la solution par fixation sur une résine cationique forte sous forme H⁺, d'où elle est éluée par une solution aqueuse diluée de NaCl (0,1 M). p = 80 g.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 7 minutes environ.

F. N,N'-[bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)] 2,4,6-triido 5-(glycylamino) isophtalimide:

1. Chlorure de l'acide 5-(phtalamidoacétamido) 2,4,6-triido-isophtalique:

On introduit 149 ml de SOCl_2 dans une solution de 335 g de N-phtaloylglycine dans 1 l de N-méthylpyrrolidone à 10°C puis après 3 heures 700 g de dichloture d'acide 2,4,6-triido 5-aminoisophtalique. Après 3 jours d'agitation à température ambiante, le milieu est versé sur 4,5 l d'éthanol aqueux 2/1 V/V). On amène le pH à 5 par addition de triéthylamine avant d'isoler le précipité formé, qui peut être purifié par lavage à l'isopropanol. $p = 850$ g.

2. Amidification par la disorbitylamine $\text{H-N}[\text{CH}_2(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}]_2$:

En opérant comme pour le composé analogue tribromé, on obtient le produit avec 85% de rendement.

3. Hydrazinolyse:

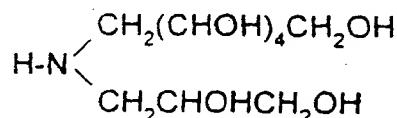
420 g du phtalimide triiodé précédent en solution dans 1 l d'eau et 300 ml d'hydrate d'hydrazine sont maintenus plusieurs heures à 80°C. Après acidification du milieu à pH 3,6 on élimine l'excès d'hydrazine par chromatographie sur une résine échangeuse de cations (H^+) telle que IMAC® HP111E commercialisée par Rohm et Haas, puis les chlorures avec une résine échangeuse d'anions (OH^-).

Le produit final peut être purifié par chromatographie sur résine échangeuse de cations (H^+ forte) et précipité à partir de sa solution aqueuse dans l'éthanol. Rendement 50%.

HPLC: colonne No. 1;

Eluant No. 4: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{P.I.C.}^\circledR \text{ B8}$ (0,05 M) (Waters) 15/85; débit 1 ml/min. $t_r = 3$ minutes.

G. 1-deoxy 1-[(2,3-dihydroxypropyl)amino] D-galactitol



On maintient 27 g de 3-aminopropane 1,2-diol et 50 g de D-galactose dans 140 ml de méthanol sous agitation à 40°C pendant 16 heures. On ajoute alors 60 ml d'eau et on effectue, en présence de 7 g de palladium sur charbon (à 10%) l'hydrogénéation de l'imine durant 7 heures à 60°C sous une pression de 20×10^5 Pa d'hydrogène.

Le catalyseur est alors séparé par filtration sur Célite®. Après élimination du solvant sous pression réduite, le résidu, dissous dans le minimum d'eau (50 ml), est introduit lentement dans 600 ml d'isopropanol. Le précipité formé est isolé. $F = 132^\circ\text{C}$, rendement 90%.

On peut aussi avant la précipitation dans l'isopropanol, chromatographier le produit brut, en solution dans 200 ml d'eau sur 500 ml d'une résine échangeuse d'ions sous forme acide sulfonique en eluant par une solution aqueuse de NH_4OH dilué.

Dans ces conditions, l'aminoalcool est un mélange pratiquement 50/50 des deux diastéréoisomères.

Par recristallisation, précipitation fractionnée ou mise en suspension, on peut enrichir le mélange en l'un ou l'autre des isomères.

Ainsi, par traitement au méthanol à sa température de reflux (25 g de l'aminoalcool dans 500 ml du solvant) on obtient un mélange qui contient un excès de l'un des isomères: 65% de l'isomère ayant le plus grand temps de rétention d'après les surfaces mesurées sur les chromatogrammes obtenus dans les conditions suivantes:

Chromatographie en phase gazeuse (dérivé totalement trifluoroacétylé par action de l'anhydride trifluoroacétique à 60°C);

Appareil: Varian Star 3400;

Colonne: DB 1701 de J & W (0,25 μm - 30m x 0,25 mm);

Gaz vecteur He - T injecteur (split 1/40°) = 290°C;

T colonne = 150°C à 280°C (5°C/mm) - Volume: 1 μl ;

t_r : 14,5 et 14,9 minutes (5,6 mn pour l'aminopropanediol de départ).

RMN ^{13}C (200 MHz - DMSO d6 - Réf DMSO - T = 30°C)

δ (ppm): 71,7; 71,6; 70,5; 70,1; 69,5; 68,5; 68,2 - (CHOH) 64,6; 63,2; (CH₂OH) - 53,4; 53; 52,9 (NCH₂).

On peut aussi obtenir chaque diastéréoisomère en condensant le D-galactose sur l'énanthiomère pur de l'aminoalcool ou par action des énanthiomères du glycitol sur la N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)benzylamide

comme suit:

a) N-benzyl N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine:

On dissout dans 230 ml de méthanol 29 g de D-galactose, 17 ml de benzylamine et on maintient le mélange à 50°C pendant 7 heures sous une pression d'hydrogène de 8×10^5 Pa après addition de 5 g de charbon palladié à 5%.

Après l'hydrogénéation, on introduit à 40°C, une solution aqueuse d'acide chlorhydrique jusqu'à pH acide dans le milieu réactionnel.

On filtre le mélange sur Célite® à température ambiante pour éliminer le catalyseur, et après concentration partielle, on introduit une solution aqueuse de NaOH 5N jusqu'à pH basique. Le précipité formé est isolé et recristallisé dans l'éthanol.

RMN ^{13}C (200 MHz - DMSO d6 - Réf DMSO - T = 30°C)

δ (ppm): 140,8 (CCH_2N) - 128,8; 128,4; 126,9 (phénol) - 72; 70,6; 69,9; 68,8; (CHOH) - 63,2 (CH_2OH) - 53,1; 52,4 (CH_2NH).

b) N-benzyl N-(2,3-dihydroxypropyl)(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine:

On dissout 6,5 g de l'amine secondaire obtenue dans l'étape précédente dans 200 ml de méthanol à 60°C, puis on introduit dans la solution à cette température 2,5 g de glycitol (racémique ou énantiomère pur) et on maintient le mélange sous agitation 24 heures. On élimine ensuite le solvant par distillation sous pression réduite, et on chromatographie le résidu après dissolution dans 200 ml d'eau sur une colonne de résine Amberlite® IMAC 110 sous forme H⁺ en éluant avec une solution aqueuse de NH₄OH diluée (0,1%). On obtient ainsi 5,5 g de l'amine.

c) N-(2,3-dihydroxypropyl) N-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)amine:

2 g de l'amine tertiaire obtenue dans l'étape précédente en solution dans 30 ml d'eau sont hydrogénés à 45°C sous pression d'hydrogène de 100×10^5 Pa pendant 5 heures en présence de 0,6 g de charbon palladié à 10%. La solution est ensuite filtrée sur Célite® pour éliminer le catalyseur et concentrée sous pression réduite. Le résidu peut être recristallisé dans l'éthanol.

Lorsque l'on condense le (S)-glycidol on obtient l'aminoalcool diastéréoisomère dont le temps de rétention dans les conditions de la chromatographie en phase gazeuse précédente est le plus long.

A partir du D-glucose et du D-mannose, on obtiendra en appliquant ces procédés des diastéréoisomères de ces aminoalcools, alors que d'autres aminoalcools pourront être obtenus à partir d'aminoalcools primaires ou de sucres différents.

H. Chelate de gadolinium de l'acide (1,4,7,10-tétraazacyclododécane) 1,4,7,10-tétra(2-succinique):

1. Condensation de l'acétylène dicarboxylate de benzyle sur les 4 atomes d'azote du cyclen:

On verse goutte à goutte à 20°C, 23 g d'acétylène dicarboxylate de benzyle, préparé comme décrit dans J.C.S. Perkin I, p. 2024-2029 (1973), en solution dans 25 ml d'acétonitrile sur une solution de 2,7 g de cyclen dans 50 ml d'acétonitrile; Après 3 heures d'agitation à 50°C, on élimine le solvant sous pression réduite et on purifie par chromatographie sur silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol (98/2 - V/V) pour isoler 19 g de solide jaune.

2. Réduction de l'énamine:

On introduit par portions sous agitation, 7 g de cyanoborohydrure de sodium dans une solution de 19 g du solide dans 500 ml d'acétonitrile et 50 ml d'acide acétique et on maintient le mélange une nuit sous agitation à température ambiante. Après élimination du solvant sous pression réduite, le résidu huileux est mis en solution dans un mélange dichlorométhane/méthanol (99/1) et filtré sur silice. Après évaporation du solvant, on isole 19 g d'huile jaune.

3. Débenzylation:

8 g de l'octaester obtenu, dans un mélange d'eau/méthanol (175 ml/75 ml) sont hydrogénés pendant 6 heures en présence de 4 g de palladium sur charbon à 10% (pression: $3,5 \times 10^5$ Pa). Après séparation du catalyseur par filtration et élimination du solvant par distillation, on obtient 3 g d'octaacide sous forme de poudre blanche.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 1; t_r = 18 à 19 minutes.

4. Complexation:

1 g de l'octaacide obtenu est mis en suspension dans 20 ml d'eau, le pH est amené à 5,5 par addition

d'une solution aqueuse de NaOH 1N et 0,285 g de Gd₂O₃ sont ajoutés. Après 4 heures d'agitation à 70°C du milieu réactionnel dont le pH est maintenu entre 5,5 et 6,5 par addition d'une solution aqueuse de HCl 1N, il est filtré et le filtrat concentré à sec pour donner le sel de sodium du chelate.

5 Exemple 1.

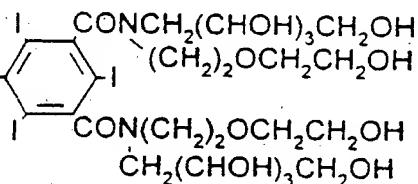
[0062] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

10 m = 2,



15 R' = CH-(CH₂)₂CONHR

R =



25 1. Acide 4-[N'-(4-nitrophényl)uréido]benzoïque:

A 10°C, on introduit sous agitation dans 80 ml de tétrahydrofurane 24,6 g de 4-nitrophénylescyanate, puis lentement 20,5 g d'acide 4-aminobenzoïque en solution dans 70 ml de tétrahydrofurane. On laisse revenir le mélange à température ambiante et on poursuit l'agitation 1 heure avant d'isoler le précipité formé. p = 45 g. HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2: H₂O/CF₃COOH; pH = 3,4 avec gradient d'acetonitrile (95/5 à 50/50 - V/V en 50 min); débit 1 ml/min; t_r = 44 minutes.

30 2. Acide 4-[N'-(4-aminophényl)uréido]benzoïque:

22 g du produit ci-dessus et 37 ml de solution aqueuse de NaOH 1N sont introduits dans 280 ml d'eau avec 3 g de palladium sur charbon (5%). On maintient le milieu sous une pression d'hydrogène de 0,6 MPa pendant 6 heures à 65°C. Après retour à température ambiante, on amène le pH à 10 et on filtre le catalyseur sur Celite® avant d'acidifier jusqu'à pH 5,3 par addition d'une solution aqueuse de HCl 6N; le précipité obtenu est lavé à l'acétone. p = 13,2 g. HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 33 minutes.

35 3. Acide 4-[N'[4-(phthalimidoacétamido)phényl]uréido]benzoïque:

On dissout 5,8 g d'acide phthalimidoacétique dans 26 ml de diméthylacétamide à 10°C et on introduit, en maintenant la température, 2 ml de chlorure de thionyle, puis, après 2 heures d'agitation, 7 g du composé obtenu à l'étape précédente.

40 Après 12 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est versé dans 250 ml d'eau et le précipité formé lavé jusqu'à neutralité avec de l'eau à 25°C puis 95°C. p = 10,4 g.

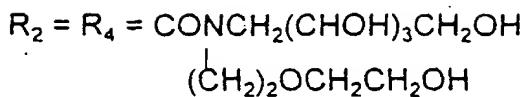
45 HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 40 minutes.

4. N,N'-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl)N,N'-[2(hydroxyéthoxy)éthyl] 2,4,6-triodo 5-[4-[N'(4-phthalimidoacétamido)phényl]ureido]benzoyl glycylamino]isophtalamide:

50 On dissout dans 40 ml de diméthylacétamide 4 g du composé obtenu ci-dessus avec 1,7 g d'HOBt, H₂O et 9,3 g de N,N'-bis-(2,3,4,5-tétrahydroxypentyl)N,N'-bis(hydroxyéthoxyéthyl) 2,4,6-triodo 5-(glycylamino) isophtalamide puis 2,4 g d'EDCI, HCl à 0°C. Après 1 nuit d'agitation à température ambiante le milieu est versé dans 300 ml de dichlorométhane. Le précipité isolé est lavé à l'éther diéthylique.

55 HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 30-33 minutes (mélange d'isomères).

5. Elimination du groupe phthalimido: produit de formule III dans laquelle Z = CH₂CONH; Z' = NHCONH; Z'' = CONHCH₂CONH;



5

$R_1 = R_3 = R_5 = I$:

Dans 45 ml d'eau, on introduit à 80°C, 11,5 g du composé précédent dans 1,12 ml d'hydrate d'hydrazine (0,023 mol). Après 2 heures 45 à 80°C, on refroidit à 0°C et acidifie jusqu'à pH 1 par addition de HCl aqueux 12N. Le mélange est ensuite filtré sur Celite® à température ambiante puis filtré sur 16 ml de résine cationique (H^+) IMAC® HP 111E et 80 ml de résine anionique faible (OH^-) IMAC® HP661, commercialisées par Rohm et Haas.

10

Après une dernière purification par filtration sur silice silanisée, on obtient 4,6 g du produit final.

15

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 24-27$ minutes (mélange d'isomères).

15

6. Condensation des produits A et III

On introduit à 40°C dans 20 ml d'une solution aqueuse à pH 6, 4,5 g de l'amine ci-dessus et 0,63 g du chelate A, 0,057 g de NHS (sel de sodium) et 0,76 g d'EDCI, HCl. Après 15 minutes le mélange est versé dans l'eau et le précipité isolé. Après élimination des produits de départ on obtient le composé de formule I.

20

Chromatographie d'exclusion stérique: (CES).

25

Conditions No. 1 : effectuée sur une succession de 4 colonnes (30 cm x 8 mm) commercialisées par Shodex (JP) sous les références OH Pak SB-HQ, contenant du gel de polyhydroxyméthacrylate, dont les limites d'exclusion, déterminées avec du pullulan, sont successivement 10^6 Kdaltons (SB-804); 10^5 Kdaltons (SB-803); 10^4 Kdaltons (SB-802-5); 10^4 Kdaltons (SB-802-5).

Eluant: NaCl aqueux (0,16 M)/acétonitrile (70/30-V/V); débit 0,8 ml/min.

30

T = 30°C; t_r 38 minutes (50-53 min pour l'amine de départ).

HPLC: colonne No. 3, 25 cm x 4,6 mm Platinum EPS C18 100 Å; 5 µM (Alltech);

Eluant No. 3: eau/CH₃CN de 98/2 à 60/40 - V/V en 50 min; débit: 1 ml/min;

T=25°C; $t_r = 26$ minutes.

Exemple 2.

[0063] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

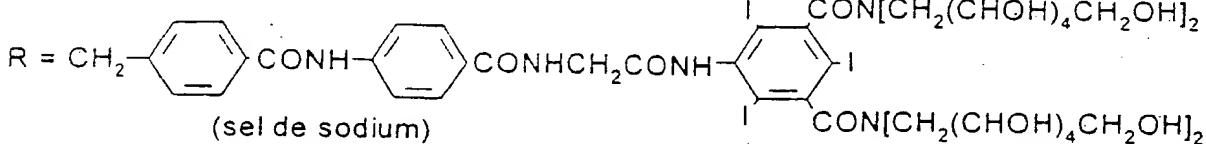
35

$$m = 2$$

40



45



50

55

1. Acide 4-[4-(phthalimidométhyl)benzamido]benzoïque:

On introduit dans une solution préparée avec 25 g d'acide 4-amino-méthylbenzoïque, 18 g de Na₂CO₃ et 165 ml d'eau, 37 g de N-carbethoxyphthalimide. Le précipité formé est isolé puis mis en suspension dans 60 ml de diméthylacétamide dans lequel on introduit lentement à 10°C, 4,7 ml de chlorure de thionyle. Après 3 heures à cette

EP 0 922 700 A1

température, on introduit 9 g d'acide 4-aminobenzoïque et on maintient le milieu 12 heures à température ambiante, avant de le verser dans 600 ml d'eau. Le précipité formé est isolé. HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 48$ minutes.

2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-triido 5-[4-(4-amino méthylbenzamido)benzoylglycylamino]isophthalamide:

a) On agite jusqu'à dissolution 160 ml de diméthylacetamide avec 39 g de 5-glycylamino N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-triido isophthalamide, 4,6 ml de triéthylamine, 5,7 g d'HOBT, H_2O et 12 g du produit obtenu ci-dessus, avant de refroidir à $0^\circ C$ et d'ajouter 8 g d'EDCI, HCl. En fin de réaction le milieu est versé sur 1000 ml de dichlorométhane. Le précipité isolé est purifié par précipitation dans le méthanol à partir de sa solution aqueuse. $p = 43$ g.

b) Hydrazinolysé:

25 g de phthalimide précédemment obtenus sont dissous dans 50 ml d'eau à $80^\circ C$ avant d'ajouter 2,2 ml d'hydrate d'hydrazine. Après 3 heures d'agitation, le milieu est refroidi et acidifié jusqu'à pH 1 par addition d'HCl 12N. Le milieu est alors filtré sur Célite® puis purifié par chromatographie sur résine cationique faible (H^+) puis sur résine anionique faible (OH^-).

On isole ainsi 15 g du produit cherché.

HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 19$ minutes.

c) Condensation sur le chelate de gadolinium A:

15g de l'amine ainsi obtenue et 1,9 g du chelate A (sel de sodium) sont dissous dans 40 ml d'eau. Après acidification jusqu'à pH 6 par addition de HCl aqueux 1N, on introduit à $40^\circ C$ 2,3 g d'EDCI, HCl. Après 2 heures d'agitation, le milieu est introduit dans 400 ml d'éthanol; le précipité formé, mis en solution aqueuse, est filtré sur noir de carbone Norit. On obtient ainsi 8,5 g de produit pur.

CES: conditions No. 1; $t_r = 36$ minutes.

HPLC: colonne et éluant No. 3; $t_r = 23$ minutes.

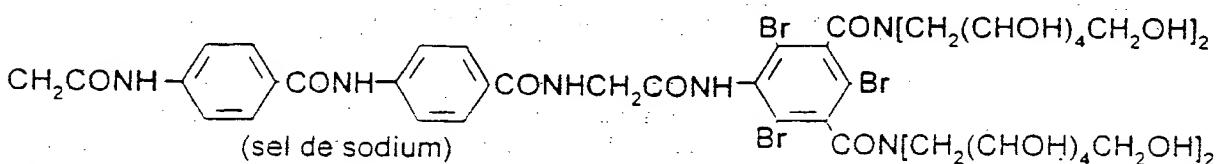
Exemple 3.

[0064] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$m = 2$



R =



a) Acide 4-[4-nitrobenzamido]benzoïque:

Peu à peu, on introduit 100 g de chlorure d'acide 4-nitrobenzoïque dans 74 g d'acide 4-aminobenzoïque et 360 ml de diméthylacétamide, en maintenant la température à moins de $25^\circ C$. Après 24 heures d'agitation, on ajoute à $10^\circ C$, 509 ml de chlorure de méthylène, pour précipiter le produit cherché. Après lavage à l'eau et séchage, on isole 145 g de produit.

b) Acide 4-(4-aminobenzamido)benzoïque:

On soumet une suspension de 136 g d'acide précédent dans 1,8 litre d'eau dans laquelle on a ajouté 240 ml de solution aqueuse de NaOH 1N et 14 g de palladium sur charbon (10%) à une pression d'hydrogène de 0,6 MPa

pendant 4 heures.

Le pH de la suspension finale est alors amené vers 10 avant filtration sur Celite® pour éliminer le catalyseur. Le précipité formé lors de l'acidification du filtrat jusqu'à pH 5,3 est isolé et séché.

p = 106 g; F > 260°C.

5 c) Acide 4-[4-(phtalimidoacétamido)benzamido]benzoïque:

On introduit dans une solution de 90 g d'acide phtalimidoacétique dans 400 ml de diméthylacétamide à 10°C, 32 ml de chlorure de thionyle goutte à goutte puis, après 3 heures d'agitation, 105 g de l'aminoacide précédemment obtenu à une température inférieure à 20°C.

Après 12 heures d'agitation, le milieu est versé dans 4 litres d'eau et le précipité isolé, lavé à l'eau chaude.

10 Poids après séchage: 176 g. F > 260°C.

d) Chlorure de l'acide précédent:

On introduit 2,5 ml de chlorure de thionyle dans 10 g de l'acide en suspension dans 50 ml de dioxane, et 1 ml de diméthylformamide et on maintient le mélange sous agitation à 50°C pendant 5 heures.

Après addition d'un volume d'éther diisopropylique, on isole 10 g de précipité.

15 On peut aussi mettre l'acide en suspension dans le toluène avec du chlorure de tricaprylylméthylammonium comme catalyseur.

e) N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(4-[4-(phtalimidoacetamido)benzamido]benzoylglycylaminoo)isophthalamide:

Une solution de 2,25 g de chlorure d'acide avec 5 g de N,N'-bis (2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(glycylamino)isophthalamide et 0,7 ml de triéthylamine dans 25 ml de diméthylacétamide ou de N-méthylpyrrolidone est maintenue 12 heures sous agitation puis versée dans 60 ml d'éthanol. On isole ainsi 6,2 g de précipité.

HPLC: colonne No. 1; éluant No. 2; t_r = 27-35 min. (mélange d'isomères).

25 f) Hydrazinolyse:

On introduit une solution de 0,6 ml d'hydrate d'hydrazine dans 10 ml d'eau dans une solution de 10 g du phtalimide précédent dans 40 ml de diméthylacétamide à 80° C. Après 3 heures d'agitation à cette température, le mélange refroidi est versé dans 125 ml d'éthanol. On isole 9 g de précipité qui est purifié par traitement de sa solution aqueuse par une résine anionique forte (OH^-) puis cationique faible (H^+). p = 8 g.

30 On peut aussi acidifier le milieu réactionnel pour séparer le phthalylhydrazide précipité et éliminer le solvant et les molécules de faible masse par ultrafiltration avant une précipitation finale dans l'éthanol aqueux. HPLC: colonne No. 1 : Eluant No. 2 mais 90/10 V/V sans gradient; t_r = 28-35 min.

g) Couplage sur le chelate A pour obtenir le composé de formule I:

On dissout dans 135 ml d'eau 5 g du composé obtenu à l'étape (f) avec 0,65 g du chelate A (sel de sodium); le pH du milieu est abaissé jusqu'à 6 par addition d'HCl aqueux 1N avant d'introduire à 40° C 0,8 g d'EDCI, HCl dans le milieu. Après 2 heures d'agitation et retour à température ambiante, le milieu est versé dans 135 ml d'éthanol.

40 On peut aussi introduire 1,6 g du chelate A (sel de sodium) dans 25 ml de solution aqueuse de 10 g de l'amine obtenue en f puis à pH 6,5, successivement 18 ml de dioxane, 1,4 g d'EDCI et 0,08 g d'HOBT. Après 2 heures à température ambiante, on verse le milieu réactionnel dans 100 ml d'éthanol et on isole le précipité. Redissous dans 100 ml d'eau, il est traité deux fois par 1 g de noir de carbone avant d'être reprécipité dans 3 volumes d'éthanol.

[0065] Le précipité formé est purifié par traitement avec 5 ml de résine échangeuse d'ions Chelex 100 (Na^+) commercialisée par Sigma, puis par diaultrafiltration sur membrane de seuil de coupure 5 KD, à pH 7. p = 4 g.

45 CES: Conditions No. 1; t_r = 34 minutes.

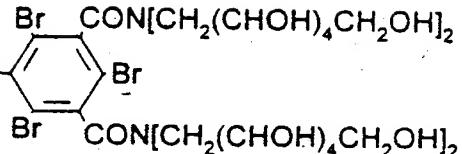
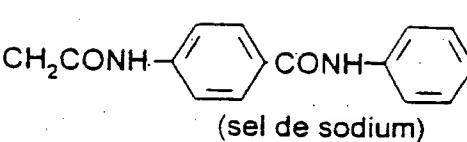
HPLC: colonne et éluant No. 3; t_r = 23 minutes.

Exemple 4.

50 [0066] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

m = 2

R' = H et R =



10

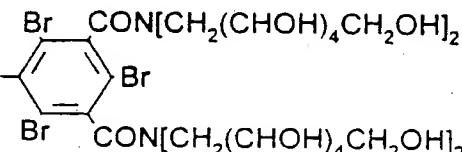
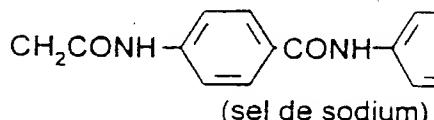
[0067] On maintient 5 heures à 40°C, sous agitation, 0,3 g du complexe de gadolinium de l'acide 1,4,7,10-téraaza-cyclododécane 1,4,7-triglutarique préparé selon (B), 2 g de l'amine préparée à l'exemple 3 (f) et 0,3 g d'EDCI, HCl dans 5 ml d'eau, en maintenant le pH à 7 par addition d'une solution aqueuse de HCl 1N. Le milieu est versé dans 50 ml d'éthanol et le précipité formé est isolé. Il est purifié en solution dans 120 ml d'eau par ultrafiltration sur une membrane de 3 KD de seuil de coupure pour éliminer les produits de départ n'ayant pas réagi. Après agitation sur noir de carbone et filtration, la solution est amenée à sec pour donner 1 g de solide blanc.

20

CES: Condition No. 1; t_r = 36,8 minutes.HPLC: colonne et éluant No. 3; t_r = 31 minutes.Exemple 5.

25 [0068] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

m = 2

R' = CH₂COOH et R =

5

[0069] En appliquant le même mode opératoire que pour l'exemple 4, on obtient 0,8 g de produit final à partir de 0,3 g de chelate de départ C et 2 g de l'amine préparée à l'exemple 3 f.

0

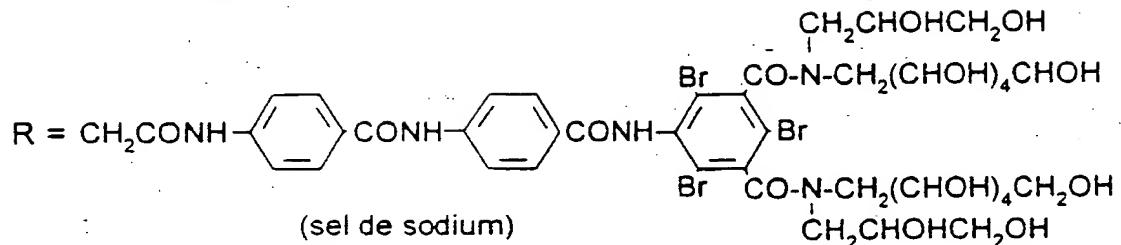
CES: Conditions No. 1; t_r = 35,7 minutes.HPLC: colonne et éluant No. 3; t_r = 22 minutes.Exemple 6.

5 [0070] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$$m = 2$$



$$R' = \text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$$



1. Acide 5-[4-(4-aminobenzamido)benzamido] 2,4,6-tribromo isophthalique:

(a) Chlorure de l'acide 4-(4-nitrobenzamido)benzoïque:

On maintient 8 heures à la température de reflux dans 250 ml de chlorure de thionyle et 0,1 ml de diméthylformamide, 70 g de l'acide. L'excès de chlorure de thionyle est distillé sous pression réduite et le résidu est versé sous agitation sur 1,5 l d'acétate d'éthylé et 500 g de glace pilée.

Le produit final est extrait dans la phase organique, celle-ci est lavée avec de l'eau, une solution aqueuse de bicarbonate de sodium puis séchée et concentrée, $\rho = 64$ g.

(b) Acide 5-[4-(4-nitrobenzamido)benzamido] 2,4,6-tribromo isophthalique:

On maintient 18 heures à la température de reflux une solution de 64 g du chlorure d'acide avec 67 g d'acide 5-amino 2,4,6-tribromo isophthalique dans 170 ml de dioxane. Le solvant est évaporé et le résidu, après lavage par 300 ml d'acétate d'éthyle chaud, est dissous dans 600 ml d'eau avec une quantité suffisante de NaOH 5N pour obtenir un pH 7; après lavage à l'acétate d'éthyle et acidification, on isole le produit cherché, précipité. $p = 73$ g.

(c) Réduction:

19 g du produit précédent en solution aqueuse à pH 6 sont maintenus 7 heures sous une pression d'hydrogène de 0,5 MPa en présence de 2 g de platine sur charbon type 156 (Johnson Matthey). Après filtration, la solution est évaporée. p = 15g.

2. N,N'-(2,3dihydroxypropyl) N,N'-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-[4-(4-glycaminobenzamido)benzamido] isophthalimide;

(a) On introduit 13 g du dérivé précédent, à 10°C, dans 10 ml d'une solution du chlorure de l'acide phthalimidoacétique préparé, avec 4,7 g d'acide phthaloylglycine, 1,7 ml de SOCl_2 . Après 2 heures d'agitation à 20°C, la solution est versée dans 150 ml d'eau à 80°C et le précipité est isolé. $p = 10,6$ g.

(b) Chlorure d'acide:

On introduit 16 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 12,4 g du dérivé précédent dans 60 ml de dioxane et 10 ml de diméthylformamide, en maintenant la température à moins de 10°C. Après 30 minutes d'agitation, la solution est versée dans 200 ml d'eau et le précipité isolé est lavé avec 100 ml d'acétate d'éthyle. $p = 12$ g.

(c) Condensation sur l'aminoolcool:

A 60°C, on introduit 11,6 g du dichlorure d'acide dans 120 ml de N-méthylpyrrolidone contenant 13,5 g de 1-déoxy 1-(2,3-dihydroxypropyl-amino)D-galactitol préparé suivant G. Après 4 heures d'agitation, le mélange est introduit dans 1200 ml de dichlorométhane et le précipité isolé. $p = 35$ g.

(d) Elimination du groupe protecteur phtalimide:

14 g du dérivé précédent sont introduits dans 30 ml d'eau à 80°C, contenant 1,2 g d'hydrate d'hydrazine. Après 3 heures à cette température, la solution est acidifiée jusqu'à pH 1 par addition d'une solution aqueuse de HCl 5N. Le précipité formé après plusieurs heures est séparé et le filtrat traité successivement par les résines IMAC® HP 1110 Na et HP 661 (Rohm et Haas). HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 25-28$ minutes (produit de départ 32-36 minutes).

3. Réaction avec le chelate A:

On introduit dans 15 ml d'eau, 0,6 g du chelate de gadolinium A (sel de Na), 0,7 g d'EDCI, HCl et 4 g de l'amine précédente; le pH est amené à 6 par addition d'une solution aqueuse de HCl 1N et le mélange maintenu 2 heures à 40°C, avant d'être introduit dans 200 ml d'éthanol. Le précipité formé est isolé et sa solution dans 100 ml d'eau soumise à une ultrafiltration sur une membrane de polyéthersulfone de seuil de coupure 5 KDa.

HPLC: colonne et Eluant No. 3; $t_r = 26$ minutes.

CES: Conditions No. 1 : $t_r = 36$ minutes.

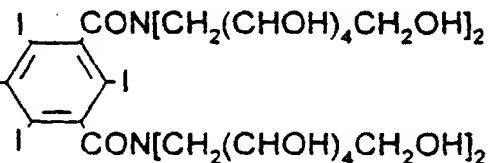
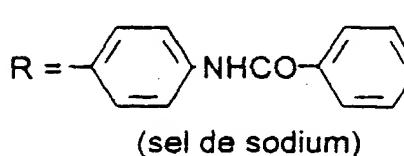
10 Exemple 7.

[0071] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$$m = 2$$



$$R' = \text{CH}-(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$$



30 1. Acide 4-(4-aminophénylcarbamoyl)benzoïque:

(a) 4-(4-nitrophénylcarbamoyl)benzoate de méthyle:

Vers 10°C, on introduit peu à peu 10 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 25 g de monoester méthylique de l'acide téraphthalique dans 125 ml de diméthylacétamide; après 1 heure 30 d'agitation à 15°C, le mélange est introduit lentement dans une solution de 19 g de 4-nitroaniline dans 125 ml du même solvant. Après 2 heures à 50°C, le précipité formé est isolé.

Rendement: 97%.

(b) Réduction:

10 g du dérivé nitré précédent sont mis en suspension dans 100 ml de diméthylacétamide en présence de 2,5 g de Palladium sur charbon à 10% (humidité 50%) et maintenus sous une pression d'hydrogène de 0,5 Mpa pendant 7 heures. Le catalyseur est éliminé par filtration du milieu sur Clarcel® et le filtrat introduit dans 500 ml d'eau. Le précipité formé est isolé. Rendement: 97%.

(c) Hydrolyse du groupe ester:

9 g du composé précédent, 50 ml de NaOH aqueux (2N) et 25 ml de méthanol sont maintenus à 60°C pendant 2 heures. La solution est acidifiée à 20°C jusqu'à pH 4,5 par addition d'une solution d'acide chlorhydrique concentrée (37%) et 7 g du précipité formé sont isolés.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 29$ minutes.

50 2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 5-[4-(4-aminophényl carbamoyl)benzoylglycylamino] 2,4,6-triiodo isophthalamide:

On agite 2 heures à température ambiante, 25 g de l'amino acétamido isophthalamide iodée préparée en F avec 3 ml de triéthylamine, 5,8 g du produit précédent, 4,3 g de HOBT et 6 g d'EDCI, HCl, puis on le verse sur 700 ml de dichlorométhane. Le précipité formé est isolé et purifié par chromatographie sur une colonne de silice silanisée RP-2 (Merck), en éluant avec de l'eau. On isole 16 g du produit cherché.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 14$ minutes.

3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

On maintient quelques jours sous agitation, à 40°C, 0,125 g du chelate (sel de Na), 1,8 g du composé précédent, 0,15 g d'EDCI, HCl et 100 mg de NHS sulfonique en maintenant le pH vers 7, par addition d'une solution aqueuse de HCl 1N. Le précipité formé par introduction de 50 ml d'éthanol est isolé et purifié par ultrafiltration sur membrane de 5 kDa pour donner 1 g du produit attendu.

CES: Conditions No. 1; $t_r = 30$ minutes.

HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; $t_r = 20$ minutes.

10 Exemple 8.

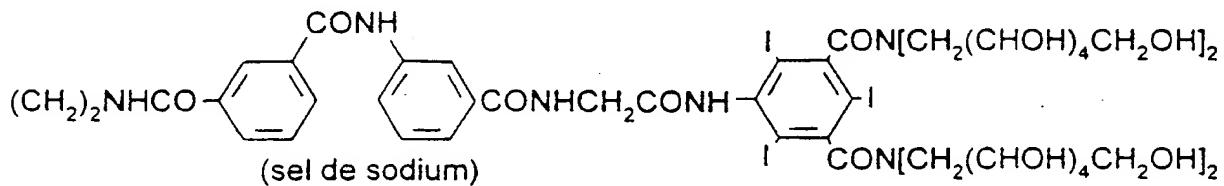
[0072] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$$m = 2$$



$$R' = \text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$$

$$R =$$



30 1. Acide 3-[3-(phtalimidoéthylcarbamoyl)benzamido] benzoïque:

(a) Acide 3-(aminoéthylcarbamoyl)benzoïque:

Une solution de 9 g de mono ester méthylique d'acide isophthalique et 1,5 ml d'éthylènediamine dans 90 ml de méthanol est agitée pendant 18 heures avant concentration à sec. Le résidu est lavé avec du méthanol glacé.

Rendement: 91%.

(b) Protection du NH₂ sous forme de phtalimide:

On introduit 9 g d'amine et 14 g de N-carbéthoxyphthalimide dans une solution de 6,9 g de carbonate de sodium dans 180 ml d'eau. Après 1 heure 30 d'agitation, le solide est isolé et le filtrat acidifié jusqu'à pH 2. Le phtalimide précipite sous forme de cristaux blancs.

Rendement: 80%.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 32$ minutes.

(c) On ajoute à 10°C goutte à goutte, 2,6 ml de chlorure de thionyle à une solution de 12 g du phtalimide précédent dans 45 ml de diméthylacétamide. Après 2 heures à 15°C, la solution orangée est ajoutée lentement à une solution de 5 g d'acide 3-aminobenzoïque dans 45 ml de diméthylacétamide. Le milieu réactionnel est maintenu 3 heures à 55°C puis versé dans 900 ml d'eau. Le précipité formé est isolé.

Rendement: 96%.

55 2. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 5-[3-(aminoéthylcarbamoyl)benzamido]benzamidoacétamido] 2,4,6-triiodoisophtalamide:

(a) 20 g de l'aminoacétamidoisophtalamide iodée préparé selon F; 2,5 ml de triéthylamine, 8,3 g du composé

EP 0 922 700 A1

précédent, 3,4 g d'HOBT et 4,9 g d'EDCI, HCl dans 100 ml de diméthylacétamide sont maintenus 1 heure 30 sous agitation. Le milieu réactionnel est alors versé dans 700 ml de dichlorométhane et 26 g de précipité formé sont isolés.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 26$ minutes.

(b) Hydrazinolyse:

On introduit 3,5 ml d'hydrate d'hydrazine dans une solution de 25 g du produit précédent dans 55 ml d'eau à 80°C. Après 8 heures à cette température, le milieu est acidifié jusqu'à pH 1 et le précipité formé est isolé. Il est purifié par chromatographie sur une résine cationique (H^+) puis anionique (OH^-). Rendement 70%.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 23$ minutes

3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

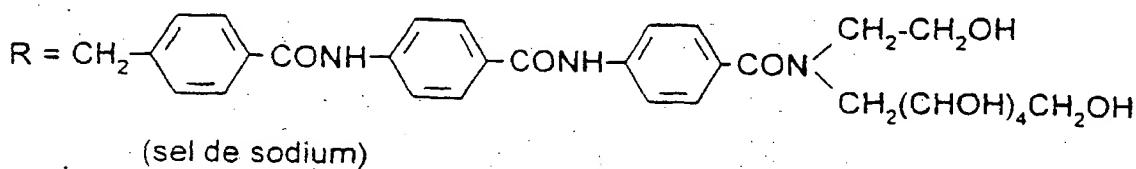
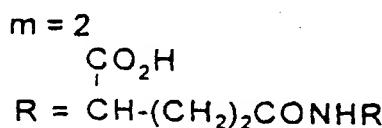
On maintient à pH 7 pendant 1 heure à 40°C sous agitation 2 g du chelate A (sel de Na), 2,3 g d'EDCI, HCl et 16 g du composé précédent dans 50 ml d'eau, avant d'ajouter 200 mg de NHS sulfonique et de poursuivre l'agitation à 40°C pendant 3 heures. Le milieu est alors versé dans 500 ml d'éthanol et le précipité isolé est purifié par ultrafiltration pour donner 10 g du sel de sodium du produit cherché.

CES: Conditions No. 1; $t_r = 36$ minutes

HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; $t_r = 21$ minutes.

Exemple 9.

²⁵ [0073] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle



1. Acide 4-[4-(4-[phtalimidométhyl]benzamido)benzamido]benzoïque

A 15°C, on introduit 3,5 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 19,3 g d'acide 4-[4-[phthalimidométhyl]benzamido]benzoïque, puis après 2 heures 45 d'agitation, 8 g d'acide 4-aminobenzoïque. Après 12 heures à 20°C, le milieu est versé dans 500 ml d'eau. Le précipité formé est lavé au dioxane. $p = 11,5$ g. HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 53$ minutes.

2. N,N'-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) N,N'-(2-hydroxyéthyl) 4-[4-[4-(aminométhyl)benzamido]benzamido]benzamide:

(a) On maintient à 20°C, une nuit sous agitation, 4,8 g de 1-deoxy 1-(2-hydroxyéthylamino)D-glucitol, 4 g de HOBT, H₂O, 11 g de l'acide précédent et 6,7 g de EDCI, HCl. Le milieu réactionnel est alors versé dans 500 ml de dichlorométhane et le précipité formé est lavé par 300 ml d'éther diéthylique. HPLC: colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 39 minutes.

(b) Hydrazinolysis:

On introduit le précipité précédent dans 60 ml de diméthylacétamide et à 80°C, 3,2 ml d'hydrate d'hydra-

EP 0 922 700 A1

zine en solution dans 25 ml d'eau. Après 3 heures le milieu est concentré et le résidu dissous dans de l'eau. La phase aqueuse est amenée à pH 7,5 par addition d'une solution concentrée de HCl, puis chromatographiée sur une résine cationique forte (H^+) puis anionique faible (OH^-). Après concréétisation dans l'éthanol, on obtient 3,5 g de précipité.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 27$ minutes.

3. Couplage avec le chelate de gadolinium A:

On porte à 40°C 1,5 g du composé précédent avec 0,5 g du chelate A dans 15 ml d'eau et 5 ml de diméthylacétamide et on introduit 0,75 g d'EDCI, HCl et 0,05 g de NHS sulfonique (sel de sodium). Après 2 heures d'agitation à cette température, le milieu réactionnel est versé sur 2 volumes d'éthanol et 1,3 g de précipité sont isolés.

HPLC: Colonne No. 3; Eluant No. 3; $t_r = 31$ minutes.

Exemple 10.

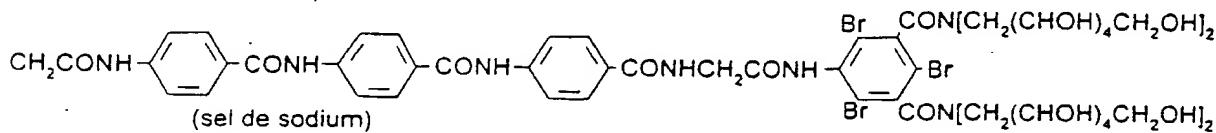
[0074] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$$m = 2$$



R' = CH-(CH₂)₂CONHR

R =



1. Acide 4-[4-(4-nitrobenzamido)benzamido] benzoïque:

On introduit dans une solution à 5°C, 35 g d'acide 4-(4-amino-benzamido)benzoïque dans 140 ml de diméthylacétamide, 25,4 g de chlorure d'acide 4-nitrobenzoïque. Après une journée d'agitation à 20°C, le milieu réactionnel est versé sur 500 ml de dichlorométhane. $p = 50$ g.

2. Réduction du groupe nitro:

Une suspension de 13 g de l'acide précédent dans 400 ml de diméthylacétamide est hydrogéné sous pression de 0,15 MPa, pendant 4 heures en présence de 3 g de Pd/C à 5% et 50% d'eau. Après filtration et évaporation du solvant, on isole 12 g de produit.

3. Acide 4-[4-[4-(phtalimidoacétamido)benzamido]benzamido] benzoïque:

Une solution de 16,4 g d'acide phthalimidoacétique dans 40 ml de chlorure de thionyle est maintenue 4 heures à sa température de reflux. Après concentration, le milieu réactionnel est introduit dans 100 ml d'éther de diisopropane. On sole 10 g de précipité de chlorure d'acide. 8,5 g de celui-ci sont introduits dans une solution de 12 g de l'aniline, obtenue à l'étape 2, en solution dans 50 ml de diméthylacétamide à 10°C. Après retour à 20°C, le solvant est éliminé par distillation et le résidu lavé par l'éther diéthylique. $p = 16$ g.

4. Condensation sur l'amine préparée en E et hydrazinolyse:

18 g de l'amine E, 10 g de l'acide précédent et 3,5 g d'HOBT sont mis en solution dans 80 ml de diméthylacétamide à 35°C; on introduit ensuite 4,9 g d'EDCI, HCl dans le milieu réactionnel refroidi à 20°C; après une journée, celui-ci est versée sur 600 ml de dichlorométhane et le précipité formé est lavé avec 400 ml d'éthanol. Le précipité est dissous dans 90 ml de diméthylacétamide et 22 ml d'eau à 80°C; 1,85 ml d'hydrate d'hydrazine sont alors introduits et le milieu est agité pendant 3 heures avant d'évaporer les solvants. Le résidu est dissous dans 800 ml d'eau et le pH amené à 1 par addition d'une solution aqueuse de HCl (12N). Après filtration sur Celite® et chromatographie sur une résine anionique et sur une résine cationique, puis filtration de l'éluant sur noir de carbone, on isole 13 g du composé cherché.

5. Réaction des produits de formule II et III:

1 g du chelate A et 8 g de l'amine ci-dessus sont dissous dans 40 ml d'eau. Après acidification jusqu'à pH 6 par addition d'une solution aqueuse diluée de HCl, on porte le milieu réactionnel à 40°C et on y introduit 0,09 g de NHS sulfonique et 1,2 g d'EDCI, HCl. Après 2 heures d'agitation à cette température, le milieu est versé dans 400 ml d'éthanol et le précipité isolé.

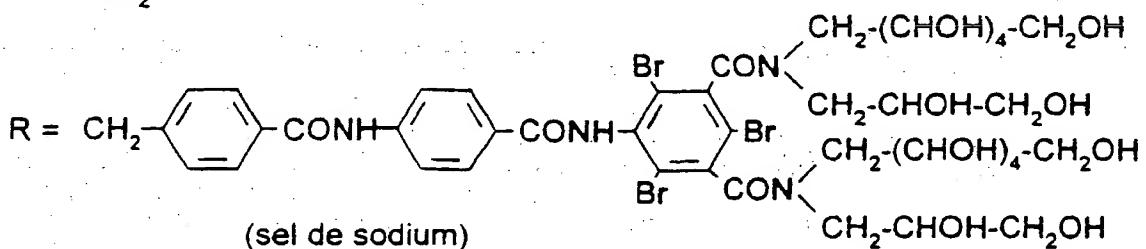
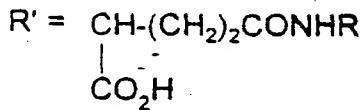
Après les traitements de purification habituels, on isole 6 g du produit final.

CES: Conditions précédentes; $t_r = 38$ minutes.

Exemple 11.

[0075] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$m = 2$



1. Acide 5-(4-nitrobenzamido) 2,4,6-tribromo isophthalique:

On maintient pendant 18 heures à sa température de reflux, 50 g de chlorure d'acide para-nitrobenzoïque et 75 g d'acide 5-amino 2,4,6-tribromo isophthalique dans 400 ml de dioxane. Après refroidissement, le précipité est filtré, lavé par 50 ml de dioxane et séché. $p = 115$ g.

2. Acide 5-(4-aminobenzamido) 2,4,6-tribromo isophthalique:

Une solution de 180 g du dérivé nitré précédent dans 600 ml d'eau est amenée à pH 6 par addition d'une solution aqueuse de NaOH 5N et hydrogénée sous une pression de 5×10^5 Pa en présence de Pt type 156 (Johnson Matthey) pendant 7 heures. Le catalyseur est séparé par filtration et l'eau évaporée sous pression réduite. $p = 80$ g.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 6: eau/acide trifluoroacétique (pH 2,8) avec méthanol (99/1 - V/V); débit 1 ml/min.; $t_r = 3,6$ minutes (18,8 minutes pour le nitré).

3. Acide 5-[4-(phthalimidométhyl)benzamido]benzamido) 2,4,6-tribromo isophthalique:

Un mélange de 10 g d'acide 4-aminométhylbenzoïque, 14,5 g de N-carbéthoxyphthalimide et 9,2 ml de triéthylamine dans 140 ml de tétra-hydrofurane est maintenu à sa température de reflux pendant 72 heures. Le précipité isolé par filtration à température ambiante du milieu réactionnel est lavé avec du diéthyléther et une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1N. On obtient 14,5 g de solide, dont 12,2 g sont dissous à 10°C dans 90 ml de N,N-diméthylacétamide et 3,5 ml de chlorure de thionyle; après 3 heures d'agitation, on introduit dans le milieu 23,4 g de l'aniline obtenue à l'étape 2 et on laisse sous agitation pendant 1 nuit avant de verser le mélange dans 900 ml d'eau. Le précipité isolé, lavé à l'eau est recristallisé dans 200 ml de dioxane. $p = 30$ g.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 5: eau/ $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (0,01 M) / CN_3CN ; débit 1 ml/min.; gradient de 85/15 à 50/50 en 20 minutes.

4. Dichloture d'acide:

30,3 g du dérivé isophthalique obtenu à l'étape précédente sont dissous dans 150 ml de dioxane contenant 26 ml de diméthylformamide et à 5°C, 42 ml de chlorure de thionyle sont introduits goutte à goutte. Après 30 minutes à 0°C, le mélange est versé dans 550 ml d'eau et le précipité formé est filtré, lavé à l'eau et à l'éther diisopropylique. $p = 26$ g après séchage.

5. N,N'-(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl)N,N'-(2,3-dihydroxypropyl) 2,4,6-tribromo 5-[4-(4-aminométhylbenzamido)benzamido] isophtalamide:

5 (a) 10 g du dichlorure d'acide sont introduits dans une solution de 15 g de 1-déoxy-1-(2,3-dihydroxypropylamino)-D-galactitol dans 100 ml de N-méthylpyrrolidone à 60°C. Après 4 heures d'agitation à cette température, le milieu, revenu à température ambiante, est versé dans 1 litre d'isopropanol. Le précipité formé est isolé et séché.

10 HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 5; $t_r = 16$ minutes.

(b) Elimination du groupe phtalimide:

15 20,4 g du solide précédent sont introduits sous agitation dans 80 ml de N,N-diméthylacétamide à 80°C suivis par 1,6 ml d'hydrate d'hydrazine en solution dans 20 ml d'eau. Après 3 heures à cette température, le milieu réactionnel est versé à température ambiante dans 1 litre d'éthanol. Le précipité formé est isolé, séché puis dissous dans 40 ml d'eau. A 0°C on introduit environ 2 ml de solution aqueuse de HCl 6N pour abaisser le pH à 2; le milieu est filtré sur Célite® puis purifié par passage sur des résines échangeuses d'ions (Amberlite® anionique et IMAC® cationique). On obtient alors 6 g du produit cherché.

20 HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 5; $t_r = 24$ à 29 minutes.

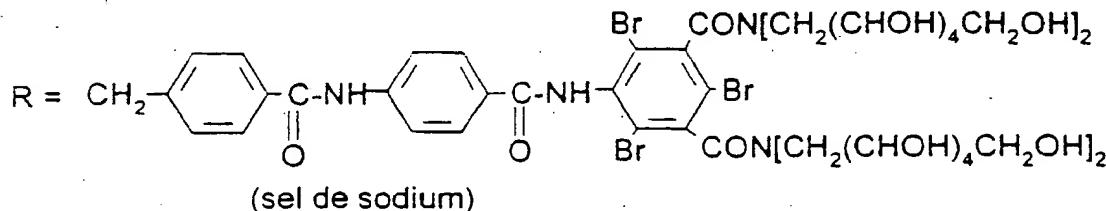
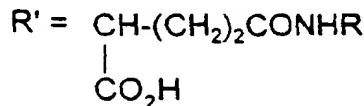
25 6. Réaction avec le chelate A:

25 5,8 g de l'amine précédente et 1,1 g du chelate (sel de sodium) sont dissous dans 12,5 ml d'eau et le pH est descendu à 6 par addition d'une solution aqueuse de HCl 1N. On introduit alors 12,5 ml de dioxane, 0,06 g de HOBT puis 1,8 g d'EDCI et on maintient le milieu à pH 6 pendant 4 heures avant de le verser dans 150 ml d'éthanol. Le précipité formé est isolé puis purifié par ultrafiltration tangentielle sur une membrane de seuil de coupure 30 KD en cellulose régénérée de 50 cm² (module Labscale® de Millipore®). On isole ainsi 5,6 g du produit cherché.
HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 3; $t_r = 16$ minutes.

30 Exemple 12.

[0076] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

35 $m = 2,$



50 1. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-[4-(4-amino-méthylbenzamido) benzamide] isophtalamide:

55 (a) On agite pendant 4 heures à 60°C, une solution dans 200 ml de N-méthylpyrrolidone de 10 g du dichlorure d'acide préparé comme dans l'étape 4 de l'exemple 11 et 20,6 g de disorbitylamine. Le milieu réactionnel est

ensuite introduit dans 1,5 litre d'isopropanol d'où on sole 17,5 g de précipité. HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 5; $t_r = 15$ minutes.

(b) Elimination du groupe phtalimide:

On opère comme dans l'exemple précédent à partir de 16 g du produit de l'étape (a) pour obtenir 6,2 g de l'amine cherchée.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 15$ à 20 minutes.

2. On opère comme dans l'exemple 11 précédent à partir de 0,78 g de chelate A et 4,8 g d'amine pour obtenir 2,5 g du produit cherché.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 3; $t_r = 13$ minutes.

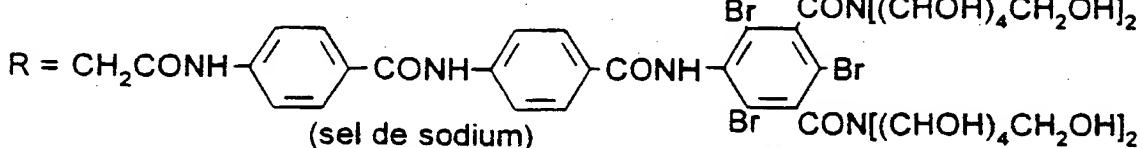
Exemple 13.

[0077] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$m = 2$



$\text{R}' = \text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{CONHR}$



1. Acide 4-(phtalimidométhylcarbonylamino) benzoïque:

On introduit à 10°C, 3,9 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 10 g de phtaloylglycine dans 30 ml de N,N-diméthylacétamide puis après 3 heures d'agitation à cette température, 4 g d'acide 4-aminobenzoïque. Après une nuit à température ambiante, le milieu est versé dans 500 ml d'eau à 80°C. Le précipité formé est isolé.

2. Acide 5-(4-[4-(phtalimidométhylcarbonylamino)benzamido] benzamido) 2,4,6-tribromo isophtalique:

On introduit à 10°C, 4,8 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 19,5 g de l'acide précédent dans 120 ml de N,N-diméthylacétamide, puis, après 2 heures 30, 38 g d'acide 5-(4-amino)benzamido 2,4,6-tribromo isophtalique. Après une nuit à température ambiante, le milieu est versé sur 1 litre d'eau et le précipité formé est isolé et lavé avec 400 ml de dioxane à chaud. $p = 7,4$ g.

3. N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(4-(4-[phtalimidométhylcarbonylamino]benzamido)benzamido) isophtalamide:

On introduit à 5°C 21 ml de chlorure de thionyle dans une solution de 16,5 g du diacide précédent dans 90 ml de dioxane et 13,6 ml de diméthyl formamide. Après 2 heures 30 d'agitation, le milieu est versé sur 400 ml d'eau et le précipité formé est séché puis introduit dans une solution à 70°C de 29,3 g de disorbitylamine dans 150 ml de N-méthylpyrrolidone. Après 4 heures d'agitation à cette température, le milieu est ramené à température ambiante, les sels sont isolés et le filtrat versé dans 1 litre d'isopropanol. Le précipité formé est lavé avec 1,2 litre d'éthanol. $p = 23$ g.

HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; $t_r = 28$ à 33 minutes.

4. Elimination du groupe phtalimide:

On introduit dans un mélange de 80 ml de N,N-diméthylacétamide et 20 ml d'eau à 80°C, 22 g du phtalimide précédent et 1,4 ml d'hydrate d'hydrazine. Après 3 heures à cette température, le milieu est ramené vers 20°C puis versé sur 300 ml d'éthanol. Le précipité formé, séché, est dissous dans 40 ml d'eau, la solution refroidie à 0°C et 3 ml d'acide chlorhydrique 6N sont ajoutés jusqu'à pH 1,5. Après filtration sur Celite®, le filtrat est élué sur 45 ml

de résine anionique Amberlite® IRA67 (Rohm et Hass), 50 ml de résine cationique IMAC® HPIIE puis 16 ml de résine anionique Amberlite® IRA458. Après neutralisation et filtration sur une membrane de 0,22 µm, la solution est amenée à sec. p = 11,7 g.

5 HPLC: Colonne No. 1; Eluant No. 2; t_r = 16 à 20 minutes.

5. Condensation sur le chelate A:

10 11,2 g de l'amine précédente et 1,9 g du chelate A (sel de sodium) sont mis en solution dans 24 ml d'eau. Le pH de la solution est amené à 6,1 par addition d'une solution aqueuse de HCl 2N. On introduit alors 24 ml de dioxane puis 2,7 g de chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide et 0,094 g d'hydroxy benzotriazole. Après 3 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est versé sur 300 ml d'éthanol et le précipité formé isolé. Après ultrafiltration avec un module Labscale® dont la membrane a un seuil de coupure de 10 KD, on lyophilise la solution. p = 10,2 g.

15 HPLC; Colonne No. 1; Eluant No. 7: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{P.I.C. A}^+$ (Waters®) gradient en 25 minutes de 25/75 à 30/70; P.I.C. A = $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_3\text{PO}_4/(\text{C}_4\text{H}_9)_4\text{N}^+\text{HSO}_4^-$; t_r = 14 minutes.

Exemple 14.

20 [0078] Chelate de gadolinium de formule I dans laquelle

$$m = 1$$



$$R' = \text{CH}-\text{CH}_2-\text{CONHR}$$

$$R =$$



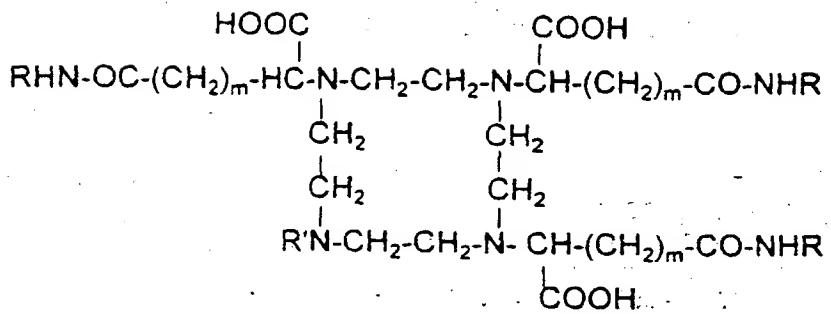
35 [0079] On dissout 1,8 g de chelate de gadolinium de l'acide (1,4,7,10-tétraazacyclododécane) 1,4,7,10-tétra(2-succinique) et 13,5 g de N,N'-bis(2,3,4,5,6-pentahydroxyhexyl) 2,4,6-tribromo 5-(4-[4-aminoacétamidobenzamido] benzoylglycylamino) isophtalamide préparé comme à l'étape f de l'exemple 3 dans 70 ml d'eau et on introduit une solution aqueuse d'HCl 1N jusqu'à pH 6. Après addition de 2 g d'EDCI le mélange est maintenu 2 heures à 40°C. On effectue alors une ultrafiltration tangentielle sur une cassette Minisette® Filtron® comportant une membrane de polyéthersulfone de seuil de coupure 5 KD, jusqu'à 2 litres de filtrat; le rétentat est ensuite mis en contact pendant 2 heures avec 15 g de noir Darco® G60 commercialisé par Aldrich®. Après séparation du noir par filtration et concentration à sec, on isolé 5 g de solide blanc.

45

CES: Conditions No. 1; t_r = 35 minutes.

Revendications

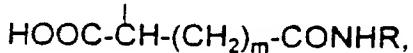
50 1. Chelate d'un cation d'un métal paramagnétique avec un composé de formule



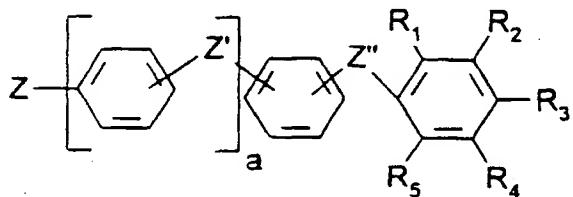
15 dans laquelle

m est 1 ou 2

R' est H, un groupe (C₁-C₄) alkyl ou hydroxyalkyl, un groupe CH₂-COOH ou CH₂-CONZ₁Z₂, Z₁ et Z₂ étant indépendamment l'un de l'autre, H, ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé, ou R' est un groupe



25 R est un groupe



30 40 dans lequel a est 1 ou 2

Z est une liaison, CH₂, CH₂CONH ou (CH₂)₂NHCO

Z' est une liaison, O, S, NQ, CH₂, CO, CO-NQ, NQ-CO, NQ-CO-NQ ou CO-NQ-CH₂-CONQ

Z'' est CO-NQ, NQ-CO ou CO-NQ-CH₂-CO-NQ, NQ-CO-CH₂-NQ-CO

avec Q est H ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé

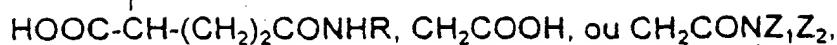
45 R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, indépendamment l'un de l'autre, sont choisis parmi H, Br, Cl, I, CO-NQ₁Q₂ ou N(Q₁)-CO-Q₂ et Q₁ et Q₂, identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes (C₂-C₅) alkyl, éventuellement hydroxylés, éventuellement interrompus par un atome d'oxygène, de telle sorte que Q₁ et Q₂ comportent à eux deux de 4 à 10 groupes OH,

étant entendu qu'au moins 1, et au plus 2 groupes R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, sont des groupes amides, et ses sels avec une base minérale, ou une base organique, pharmacologiquement acceptable.

50 2. Chelate d'un cation d'un métal paramagnétique avec un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

55 m est 2

R' est



5

a est 1,

Z est une liaison, CH₂, ou CH₂CONH,Z' est CONH, NHCO, CONH-CH₂-CONH, ou NHCONH,

10 Z'' est CONH ou CONH-CH₂-CONH, et alors R₂=R₄=CONQ₁Q₂ ou R₃=CONQ₁Q₂, et
 R₁, R₂, R₄, R₅ sont H, Br, Cl ou I,
 ou Z'' est NHCO, et alors R₂ = R₄ = N(Q₁)COQ₂ ou R₃ = N(Q₁)-COQ₂, et R₁, R₂, R₄, R₅ sont H, Br, Cl ou I.

- 15 3. Chelate d'un cation métallique paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

m est 2

R' est



25

a est 1,

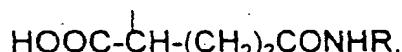
Z est une liaison, CH₂ ou CH₂CONH,Z' est CONH, NHCONH, ou CONH-CH₂-CONH,Z'' est CONH, ou CONH-CH₂-CONH,

30 R₁, R₃ et R₅ sont tous les trois Br ou I,
 R₂ et R₄ sont CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène.

- 35 4. Chelate d'un cation métallique paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

m est 2

R' est



45

a est 1,

Z est CH₂ ou CH₂CONH,

Z' est CONH, NHCONH,

Z'' est CONH, ou CONH-CH₂-CONH,

50 R₁, R₃ et R₅ sont tous les trois Br ou I,
 R₂ et R₄ sont CONQ₁Q₂ avec Q₁ et Q₂ choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q₁ et/ou Q₂ est interrompu par un atome d'oxygène.

- 55 5. Chelate d'un cation métallique paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

m est 2

R' est



5
a est 1,
Z est CH_2 , ou CH_2CONH ,

10
 Z' et Z'' sont CONH ,
 R_1 , R_3 et R_5 sont tous les trois Br ou I ,

15
 R_2 et R_4 sont CONQ_1Q_2 avec Q_1 et Q_2 choisis parmi les groupes ($\text{C}_2\text{-C}_6$) alkyl hydroxylés comportant à eux deux 6 à 10 groupes OH, ou comportant 4 à 8 groupes OH si Q_1 et/ou Q_2 est interrompu par un atome d'oxygène.

- 20
15 6. Chelate d'un cation métallique paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

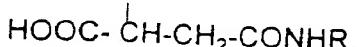
m est 2
R' est



30
25 a est 2,
Z est CH_2 ou CH_2CONH ,
 Z' est CONH , ou NHCO ,
 Z'' est CONH , ou $\text{CONH-CH}_2\text{-CONH}$,
et R_1 , R_3 et R_5 sont tous les trois Br ou I ,
et alors R_2 et R_4 sont tous les deux CONQ_1Q_2 ,
ou R_3 est CONQ_1Q_2 et alors R_1 , R_2 , R_4 et R_5 sont H, Br, ou I.

- 35
30 7. Chelate d'un cation métallique paramagnétique d'un composé de formule I, et ses sels, selon la revendication 1 dans laquelle

m est 1
R' est



45
5 a est 1,
Z est CH_2 , ou CH_2CONH ,
 Z' est CONH ,
 Z'' est CONH , ou $\text{CONH-CH}_2\text{-CONH}$,
 R_1 , R_3 et R_5 sont Br ,
9 R_2 et R_4 sont CONQ_1Q_2 avec Q_1 et Q_2 sont des groupes ($\text{C}_2\text{-C}_6$) alkyl hydroxylés comportant à eux deux de 6 à 10 groupes OH.

- 50
45 8. Chelate selon l'une des revendications 1 à 7 dans lequel le cation métallique est le Gd^{3+} .

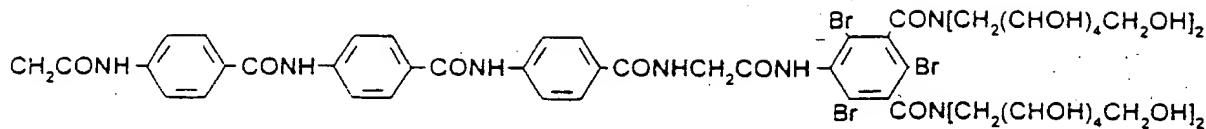
- 55
49 9. Chelate de gadolinium, et ses sels, du composé de formule I selon la revendication 1 dans laquelle

BEST AVAILABLE COPY

m est 2

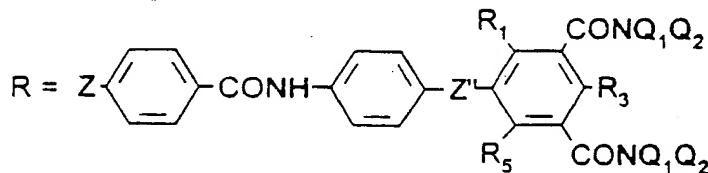
R' = HOOC-CH₂-(CH₂)₂CONHR

et R est



15 10. Chelate de gadolinium, et ses sels, du composé de formule I selon la revendication 1 dans laquelle

m est 2

R' est HOOC-CH₂-(CH₂)₂CONHR

30

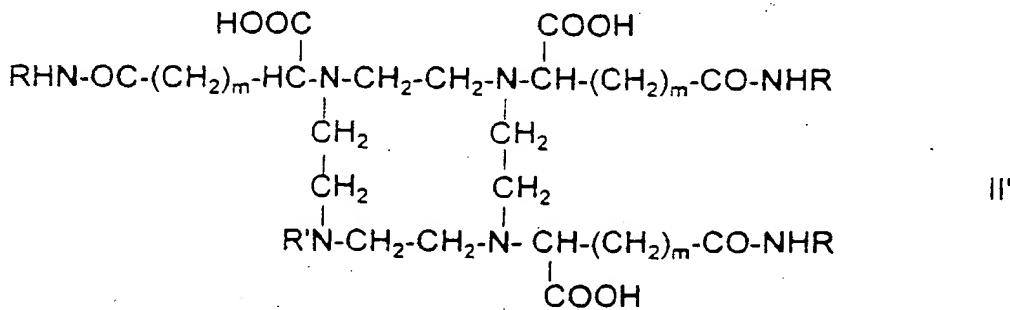
- avec Z" est CONH-CH₂CONH et Q₁ et Q₂ sont CH₂(CHOH)₄CH₂OH, alors, soit Z est CH₂ et R₁, R₃ et R₅ sont I, soit Z est CH₂CONH et R₁, R₃ et R₅ sont Br,
- ou avec Z" est CONH, Z est CH₂ ou CH₂CONH, et R₁, R₃, R₅ sont Br et Q₁ est CH₂(CHOH)₄CH₂OH, et Q₂ est CH₂CHOH-CH₂OH, ou CH₂(CHOH)₄CH₂OH.

35

11. Produit de contraste pour imagerie diagnostique par résonance magnétique comprenant une quantité efficace d'un chelate selon l'une des revendications 1 à 10 dans un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

12. Produit de scintigraphie comportant un chelate radiomarqué d'un cation métallique avec un composé de formule

40



50

dans laquelle

55

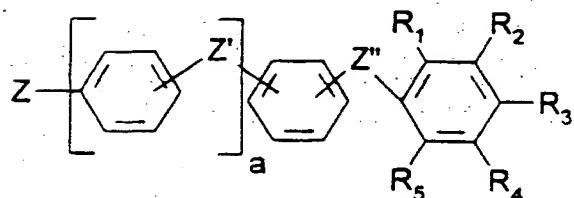
m est 1 ou 2

R' est H, un groupe (C₁-C₄) alkyl ou hydroxyalkyl, un groupe CH₂-COOH ou CH₂-CONZ₁Z₂, Z₁ et Z₂ étant indépendamment l'un de l'autre, H, ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé,

ou R' est un groupe



R est un groupe



dans lequel a est 1 ou 2

Z est une liaison, CH₂, CH₂CONH ou (CH₂)₂NHCO

Z' est une liaison, O, S, NQ, CH₂, CO, CO-NQ, NQ-CO, NQ-CO-NQ ou CO-NQ-CH₂-CONQ

Z'' est CO-NQ, NQ-CO ou CO-NQ-CH₂-CO-NQ, NQ-CO-CH₂-NQ-CO

avec Q est H ou un groupe (C₁-C₄) alkyl, éventuellement hydroxylé

R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, indépendamment l'un de l'autre, sont choisis parmi H, Br, Cl, I, CO-NQ₁Q₂ ou N(Q₁)-CO-Q₂ et Q₁ et Q₂, identiques ou différents, sont choisis parmi les groupes (C₂-C₆) alkyl, éventuellement hydroxylés, éventuellement interrompus par un atome d'oxygène, de telle sorte que Q₁ et Q₂ comportent à eux deux de 4 à 10 groupes OH,

étant entendu qu'au moins 1, et au plus 2 groupes R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, sont des groupes amides, et ses sels avec une base minérale, ou une base organique, pharmacologiquement acceptable.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numéro de la demande
EP 98 40 3108

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS					
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.6)		
A	FR 2 736 051 A (GUERBET SA) 3 janvier 1997 * revendications *	1-12	C07D257/02 A61K49/00		
D	& WO 97 01359 A	---			
D,A	EP 0 661 279 A (GUERBET SA) 5 juillet 1995 * revendications *	1-12	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;"> DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6) </div> C07D A61K		
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications					
Lieu de la recherche	Date d'achèvement de la recherche	Examinateur			
LA HAYE	2 mars 1999	Chouly, J			
CATEGORY DES DOCUMENTS CITES					
X : particulièrement pertinent à lui seul	T : théorie ou principe à la base de l'invention				
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie	E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date				
A : arrière-plan technologique	D : cité dans la demande				
O : divulgation non-écrite	L : cité pour d'autres raisons				
P : document intercalaire	& : membre de la même famille, document correspondant				

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET EUROPEEN NO.**

EP 98 40 3108

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche européenne visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets, à la date du.
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

02-03-1999

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2736051 A	03-01-1997	AU 6461696 A CA 2222697 A CZ 9704141 A EP 0835140 A WO 9701359 A NO 976098 A PL 325531 A SK 173797 A	30-01-1997 16-01-1997 18-03-1998 15-04-1998 16-01-1997 27-02-1998 03-08-1998 03-06-1998
EP 661279 A	05-07-1995	AU 687120 B AU 8178094 A CA 2139374 A CN 1110974 A CZ 9403322 A FI 946157 A JP 7224050 A NO 945069 A NZ 270289 A US 5712389 A ZA 9410382 A	19-02-1998 06-07-1995 01-07-1995 01-11-1995 12-07-1995 01-07-1995 22-08-1995 03-07-1995 28-05-1996 27-01-1998 29-06-1996